

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**TESIS**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIDIABÉTICO *IN VITRO* E *IN VIVO* DE  
LOS EXTRACTOS DE LAS SEMILLAS Y PENCA DE *Opuntia engelmannii* Y  
*Cylindropuntia imbricata*, SEMILLAS DE *Theobroma cacao*  
Y LA RAÍZ DE *Ibervillea sonora***

**POR**

**GASTALDO EMANUEL DE LA SOTA ESPARZA**

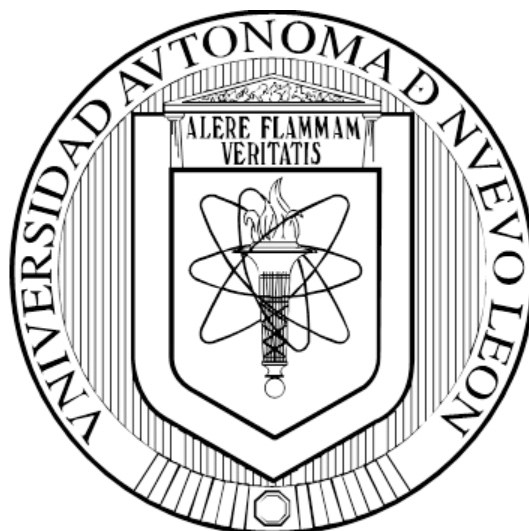
**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN QUÍMICA DE PRODUCTOS  
NATURALES**

**DICIEMBRE, 2017**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**SUBDIRECCION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**TESIS**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIDIABÉTICO *IN VITRO* E *IN VIVO* DE  
LOS EXTRACTOS DE LAS SEMILLAS Y PENCA DE *Opuntia engelmannii* Y  
*Cylindropuntia imbricata*, SEMILLAS DE *Theobroma cacao*  
Y LA RAÍZ DE *Ibervillea sonora***

**POR**

**GASTALDO EMANUEL DE LA SOTA ESPARZA**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN QUÍMICA DE PRODUCTOS  
NATURALES**

**DICIEMBRE, 2017**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIDIABÉTICO *IN VITRO* E *IN VIVO* DE LOS  
EXTRACTOS DE LAS SEMILLAS Y PENCA DE *Opuntia engelmannii* Y  
*Cylindropuntia imbricata*, SEMILLAS DE *Theobroma cacao*  
Y LA RAÍZ DE *Ibervillea sonora***

Comité interno de Tesis

---

Dr. Marco Antonio Alvarado Vázquez  
Presidente

---

Dra. Catalina Rivas Morales  
Secretario

---

Dr. Moisés Armides Franco Molina  
Vocal

---

Dra. Alejandra Rocha Estrada  
Vocal

---

Dra. María Azucena Oranday Cárdenas  
Vocal

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIDIABÉTICO *IN VITRO* E *IN VIVO* DE LOS  
EXTRACTOS DE LAS SEMILLAS Y PENCA DE *Opuntia engelmannii* Y  
*Cylindropuntia imbricata*, SEMILLAS DE *Theobroma cacao*  
Y LA RAÍZ DE *Ibervillea sonora***

Dirección de Tesis

---

Dr. Marco Antonio Alvarado Vázquez  
Director

---

Dr. Arturo Chávez Reyes  
Director externo

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

A la Universidad Autónoma de Nuevo León en particular a la Facultad de Ciencias Biológicas por permitirme llegar hasta este paso en mi formación académica.

Al Sistema Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado con la beca No 486754 para el desarrollo de este trabajo.

## **AGRADECIMIENTOS**

Un agradecimiento muy especial a mis asesores, al Dr. Marco Antonio Alvarado Vázquez y al comité de tesis que me apoyaron en esta investigación, por su valioso tiempo y esfuerzo y todos aquellos que de alguna manera apoyaron en la realización de esta tesis.

## **DEDICATORIAS**

Dedico este trabajo principalmente a Dios y a mi familia.

A Dios, por ser mi guía y darme la fuerza de poder cumplir todas mis metas.

A mi esposa la Dra. Gricel Deyanira Castillo Cantú por siempre amarme, cuidarme, entenderme y apoyarme, gracias a su amor me ayudó a ser feliz en esta etapa de mi vida y tener la fuerza de concluirla.

A mi madre la Dra. María Laura Esparza Alanís por todo el esfuerzo y sacrificio para brindarme todo el amor, comprensión, confianza y el apoyo incondicional en cada momento de mi vida.

## INDICE GENERAL

	<b>TÍTULO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>ANTECEDENTES</b>	<b>4</b>
	2.1 ¿Qué es la Diabetes?	4
	2.2 Historia	5
	2.3 La Diabetes en el mundo	6
	2.4 Criterios de diagnóstico	7
	2.5 Complicaciones de la diabetes	8
	2.6 Medicamentos usados contra la diabetes	9
	2.7 Plantas medicinales	12
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>19</b>
	3.1 Objetivo general	19
	3.2 Objetivos particulares	19
<b>4</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	<b>19</b>
<b>5</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>20</b>
<b>6</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>21</b>
	6.1 Material vegetal	21
	6.4 Tamizaje fitoquímico	22
	6.5 Viabilidad en células B16F10	25
	6.6 Determinación de la Actividad antioxidante por el método DPPH	26
	6.7 Inhibición de la $\alpha$ -glucosidasa	26
	6.8 Ensayos in vivo	27
<b>7</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>32</b>
	7.1 Tamizaje fitoquímico	32
	7.2 Viabilidad celular	32
	7.3 Actividad antioxidante	35
	7.4 Inhibición de la $\alpha$ -glucosidasa	41
	7.4 Ensayos in vivo	46
<b>8</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>58</b>
<b>9</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>68</b>
<b>10</b>	<b>PERSPECTIVAS</b>	<b>70</b>
<b>11</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>71</b>



## INDICE DE TABLAS

<b>TABLA No</b>	<b>TÍTULO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>I</b>	Distintos tipos de insulina en la actualidad	11
<b>2</b>	Tamizaje fitoquímico de los extractos de las plantas estudiadas	32

## INDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA No</b>	<b>TÍTULO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>1</b>	Toxicidad de los extractos en las células B16F10 a 100 µg/mL	33
<b>2</b>	Toxicidad de los extractos en las células B16F10 a 200 µg/ml	33
<b>3</b>	Efecto tóxico del extracto metanólico de <i>I. sonorae</i> en células B16F10	34
<b>4</b>	Curva de toxicidad del extracto metanólico <i>I. sonorae</i> en células B16F10	35
<b>5</b>	Actividad antioxidante de los extractos a 200 µg/ml	36
<b>6</b>	Actividad antioxidante de los extractos a 50 µg/ml	36
<b>7</b>	Curva de actividad antioxidante del extracto de A-Oe-S	37
<b>8</b>	Curva de actividad antioxidante del extracto de M-Oe-S	38
<b>9</b>	Curva de actividad antioxidante del extracto de A-Ci-S	38
<b>10</b>	Curva de actividad antioxidante del extracto de M-Ci-S	39
<b>11</b>	Curva de actividad antioxidante del extracto de A-IS-R	39
<b>12</b>	Curva de actividad antioxidante del extracto de M-Is-R	40
<b>13</b>	Curva de actividad antioxidante del extracto de M-Tc-S	40
<b>14</b>	Curva de actividad antioxidante del control positivo	41
<b>15</b>	Actividad antihiperglucemiante <i>in vitro</i> de los extractos a 200 µg/ml	42
<b>16</b>	Actividad antihiperglucemiante <i>in vitro</i> del extracto de H-Ci-C	43
<b>17</b>	Actividad antihiperglucemiante <i>in vitro</i> del extracto de A-Ci-S	43
<b>18</b>	Actividad antihiperglucemiante <i>in vitro</i> del extracto de A-Oi-S	44
<b>19</b>	Actividad antihiperglucemiante <i>In vitro</i> del extracto de M-Oe-S	44
<b>20</b>	Actividad antihiperglucemiante <i>in vitro</i> del extracto de A-Tc-S	45
<b>21</b>	Actividad antihiperglucemiante <i>in vitro</i> del extracto de M-Tc-S	45
<b>22</b>	Actividad antihiperglucemiante <i>in vitro</i> del control positivo	46
<b>23</b>	Efecto hipoglucémico a corto plazo en ratones normoglicémicos	47
<b>24</b>	Efecto hipoglucémico a corto plazo en los ratones diabéticos	48

<b>25</b>	Efecto antihiperglucemiante al almidón en ratones normoglucémicos	49
<b>26</b>	Efecto antihiperglucemiante a la sacarosa en ratones normoglucémicos	50
<b>27</b>	Efecto antihiperglucemiante al almidón en ratones diabéticos	51
<b>28</b>	Efecto antihiperglucemiante a la sacarosa en ratones diabéticos	52
<b>29</b>	Efecto hipoglucémico de los tratamientos a largo plazo en ratones diabéticos	53
<b>30</b>	Tolerancia a la glucosa en ratones diabéticos	54
<b>31</b>	Colesterol en ratones diabéticos	55
<b>32</b>	Triglicéridos en ratones diabéticos	56
<b>33</b>	Insulina en ratones diabéticos	57

## LISTA DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

Símbolo/ Abreviatura	Significado
STZ	Streptozocina
DPPH.	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.
DMSO	Dimetilsulfóxido.
ST.	Sin tratamiento.
H-Oe-C	Extracto hexánico de la penca de <i>Opuntia engelmannii</i> .
D-Oe-C	Extracto diclorometanico de la penca de <i>Opuntia engelmannii</i> .
A-Oe-C	Extracto de acetato de etilo de la penca de <i>Opuntia engelmannii</i> .
M-Oe-C	Extracto metanólico de la penca de <i>Opuntia engelmannii</i> .
H-Oe-S	Extracto hexánico de la semilla de <i>Opuntia engelmannii</i> .
D-Oe-S	Extracto diclorometanico de la semilla de <i>Opuntia engelmannii</i> .
A-Oe-S	Extracto de acetato de etilo de la semilla de <i>Opuntia engelmannii</i> .
M-Oe-S	Extracto metanólico de la semilla de <i>Opuntia engelmannii</i> .
H-Ci-C	Extracto hexánico de la penca de <i>Cylindropuntia imbricata</i> .
D-Ci-C	Extracto diclorometanico de la penca de <i>Cylindropuntia imbricata</i> .
A-Ci-C	Extracto de acetato de etilo de la penca de <i>Cylindropuntia imbricata</i> .
M-Ci-C	Extracto metanólico de la penca de <i>Cylindropuntia imbricata</i> .
H-Ci-S	Extracto hexánico de la semilla de <i>Cylindropuntia imbricata</i> .
D-Ci-S	Extracto diclorometanico de la semilla de <i>Cylindropuntia imbricata</i> .
A-Ci-S	Extracto de acetato de etilo de la semilla de <i>Cylindropuntia imbricata</i> .
M-Ci-S	Extracto metanólico de la semilla de <i>Cylindropuntia imbricata</i> .
H-Tc-S	Extracto hexánico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> .
D-Tc-S	Extracto diclorometanico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> .
A-Tc-S	Extracto de acetato de etilo de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> .
M-Tc-S	Extracto metanólico de la semilla de <i>Theobroma cacao</i> .
H-Is-R	Extracto hexánico de la raíz de <i>Ibervillea sonora</i> .
D-Is-R	Extracto diclorometanico de la raíz de <i>Ibervillea sonora</i> .
A-Is-R	Extracto de acetato de etilo de la raíz de <i>Ibervillea sonora</i> .
M-Is-R	Extracto metanólico de la raíz de <i>Ibervillea sonora</i> .

## RESUMEN

La diabetes es la tercera causa de muerte a nivel mundial, afectando a más de 382 millones de personas en el mundo y la tendencia es que siga en aumento. Las complicaciones relacionadas con la diabetes pueden conducir a la insuficiencia de órganos vitales y finalmente a la muerte; disminuyendo considerablemente la calidad de vida de quien la padece. Para contrarrestarla, se han producido un gran número de medicamentos sintéticos, sin embargo estos presentan efectos secundarios indeseados, por lo que el uso de hierbas medicinales con actividad antidiabética ha aumentado. Por lo anterior, en esta investigación se pretende evaluar cuatro especies de plantas comunes en México, a fin de identificar si presentan actividad antidiabética. Para ello, se evaluó la toxicidad en células B16F10, las capacidades anti-oxidante y antihiper glucemiante, mediante pruebas realizadas *in vitro* de los extractos obtenidos por maceración continua en orden creciente de polaridad, además de evaluar sus principales constituyentes químicos y seleccionar los extractos con los mejores resultados para evaluar mediante pruebas *in vivo* su capacidad antihiper glucemiante y el efecto hipoglucemiante a corto y a largo plazo con ratones diabéticos inducidos por estreptozocina. Los resultados obtenidos fueron que los extractos polares de las semillas de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* no mostraron toxicidad en las pruebas realizadas. Además, estos extractos mostraron tener una acción dual antidiabética al ser agentes antihiper glucemiantes, así como hipoglucemiantes. Por lo que se recomienda continuar con la investigación de estos como candidatos en el tratamiento y/o coadyuvantes en el control de la diabetes mellitus.

## ABSTRACT

Diabetes is the third leading cause of death worldwide, affecting more than 382 million people across the world, and the trend is that it continues increasing. Diabetes-related complications can lead to insufficient vital organs and eventually to death; considerably reducing the quality of life of those who suffer. To counteract it, a large number of synthetic drugs exist, however they have unwanted side effects, so the use of medicinal herbs with antidiabetic activity has increased. Therefore, this research intends to evaluate four species of plants common in Mexico, in order to identify at least one extract that has an effective antidiabetic response. For this purpose, toxicity in B16F10 cells, anti-oxidant and antihyperglycaemic capacities were evaluated by *in vitro* tests of the extracts obtained by continuous maceration in increasing order of polarity, as well as evaluating their main chemical constituents and selecting the extracts with the better results to evaluate *in vivo* tests their antihyperglycemic capacity and the short-term and long-term hypoglycemic effect with diabetic mice induced by streptozocin. As result it was obtained that the extracts of the seeds of *C. imbricata*, *T. cacao* and *O. engelmannii* showed no toxicity in the tests performed. In addition, these extracts were shown to have a dual antidiabetic action as antihyperglycemic agents, as well as hypoglycemic agents. Therefore, they are suitable candidates to be used in the development of treatments against diabetes.

## 1. INTRODUCCIÓN

La *diabetes mellitus* (DM) es una enfermedad no contagiosa que afecta a más de 382 millones de personas en el mundo, por lo que se le considera como una de las cinco causas principales de muerte a nivel mundial (Internacional Diabetes Federation, 2013; Organización Mundial de la Salud, 2014; Liu, *et al.*, 2016, Rangika *et al.*, 2015). Las cifras relacionadas con esta enfermedad son alarmantes. Para el 2011 ya había 366 millones de personas con diabetes en todo el mundo, y para el 2030 se espera que esto aumente a 552 millones (Borah *et al.*, 2017). Más del 80% de las muertes relacionadas con la diabetes se registran en países de ingresos bajos y medios. Casi la mitad de esas muertes corresponden a personas de menos de 70 años y un 55% a mujeres (Organización Mundial de la Salud, 2014).

La diabetes ocasiona una gran carga económica sobre los individuos y los sistemas sanitarios de los países. Los gastos sanitarios relacionados con la diabetes representan el 11% del gasto total sanitario en el mundo (Barceló *et al.*, 2003). Además, la tendencia vinculada con el aumento del sobrepeso y la obesidad, junto con el incremento en el estilo de vida sedentario y el consumo de alimentos poco saludables han provocado que se pronostique a la *diabetes mellitus* como una pandemia, que impactará negativamente la esperanza de vida y los costos del cuidado de la salud a nivel mundial (Mudi *et al.*, 2017).

En México, la *diabetes mellitus* se ha catalogado como la enfermedad crónico-degenerativa con mayor causa de mortalidad y discapacidad entre quienes la presentan. El 11% de la población mexicana entre 20 y 69 años padece diabetes, es decir más de 5 millones de personas. Además, cerca de un millón de mexicanos ignora tener esta enfermedad. En cuanto a la tasa de mortalidad en el país, cada hora se registran seis muertes asociadas con la *diabetes mellitus*. Aunque las tasas de diabetes y obesidad a nivel mundial son alarmantes, en los países en vías de desarrollo, como México, este problema es mayor, debido a la falta de recursos para enfrentarlas (Secretaría de Salud, 2007).

La *diabetes mellitus* se caracteriza por la alteración del metabolismo de la glucosa, los lípidos y las proteínas. El metabolismo alterado da lugar a complicaciones micro vasculares; incluyendo nefropatía, neuropatía y retinopatía (Farid *et al.*, 2017). Esta es una enfermedad metabólica que se caracteriza por la hiperglucemia persistente debido a la falta de producción de insulina por el páncreas o la incapacidad de la insulina producida para controlar la glucosa en sangre (Sulyman *et al.*, 2016; Bustos-Brito *et al.*, 2016).

Las complicaciones a largo plazo de la diabetes incluyen: retinopatía con una posible pérdida de la visión, nefropatía que conduce a la insuficiencia renal, neuropatía periférica con riesgo de úlceras en los pies, amputaciones, y las articulaciones de Charcot, así como neuropatía autonómica que causa genitourinario, síntomas cardiovasculares y disfunción sexual (Bustos-Brito *et al.*, 2016). El estado hiperglucémico prolongado puede conducir a la insuficiencia de órganos y finalmente la muerte (Farid *et al.*, 2017). Por esta razón, el diagnóstico oportuno es importante para poder administrar un tratamiento adecuado y eficaz para los pacientes con esta enfermedad (Dogan *et al.*, 2015).

La *diabetes mellitus* se clasifica en dos tipos principales: la tipo 1 (insulino-dependiente) y la tipo 2 (no insulino-dependiente). Entre el 5% y el 10% de las personas que sufren de diabetes presentan la tipo 1, mientras que el 90% o más, corresponden a la diabetes tipo 2, que es el tipo más común. En la diabetes tipo 2 la resistencia a la insulina desempeña un papel clave en la aparición y desarrollo de esta enfermedad (Priya *et al.*, 2016; He *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2017).

La Organización Mundial de la Salud (2014) destaca claramente la relevancia de este trastorno y su impacto social y económico a nivel mundial, por lo que exhorta a realizar un mayor número de investigaciones relacionadas con la prevención y control de esta enfermedad. Realizar investigaciones, para evaluar la efectividad de los cambios en el comportamiento a patrones más saludables, pudiera ayudar a reducir la incidencia de la diabetes en el mundo, por ejemplo, incluir una dieta con un mayor consumo de frutas y



vegetales o incluir en la dieta suplementos alimenticios que pudieran controlar y/o prevenir la hiperglucemia (Salvador *et al.*, 2016).

Actualmente las opciones terapéuticas para tratar la *diabetes mellitus* se centran en el control glucémico que implica una dieta adecuada, ejercicio regular, administración exógena de insulina y/o hipoglucemiantes orales (Lui *et al.*, 2016). Sin embargo, en los últimos años ha habido un crecimiento exponencial en el campo de la medicina a base de plantas, que está ganando popularidad a nivel mundial debido a su origen natural y una menor cantidad de efectos secundarios.

En todo el mundo, las plantas son la principal fuente de alimentos y compuestos bioactivos (antimicrobianos, antioxidantes, inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa, etc.). Las plantas utilizadas en la medicina tradicional son una fuente básica de nuevos fármacos. La Organización Mundial de la Salud (2014) ha enumerado 21,000 plantas que se utilizan con fines medicinales en todo el mundo (Patel *et al.*, 2012). De hecho, los productos vegetales se consideran generalmente menos tóxicos y con menos efectos secundarios que los productos sintéticos.

Además de eso, hoy en día el 25% de los fármacos comerciales se obtienen a partir de un producto natural y muchos de ellos se han utilizado en la terapia anti-hiperglucémica (El Abed *et al.*, 2017).

Por lo anterior, el propósito de este estudio es obtener uno o varios extractos capaces de ser utilizados como fuente para la elaboración de medicamentos antidiabéticos naturales a partir de cuatro especies de plantas nativas de México, de amplia distribución en el país y con relativamente poco uso en la industria.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 ¿Qué es la Diabetes?

La diabetes es una enfermedad metabólica que se caracteriza por elevados niveles de glucosa en sangre debido a una alteración absoluta o relativa de la secreción de insulina y/o a una alteración de la acción de dicha hormona en los tejidos insulino-dependientes. La hiperglucemia crónica se acompaña de modificaciones del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas (Murrillo *et al.*, 2004; Awasthi *et al.*, 2015).

La *diabetes mellitus* se clasifica en dos clases principales, la diabetes tipo 1 (insulino-dependiente) y diabetes tipo 2 (no insulino-dependiente). La diabetes tipo 1 es una enfermedad autoinmune en la cual se pierden las células beta del páncreas. Típicamente presenta un brote sintomático abrupto y usualmente se presenta en niños y adultos jóvenes menores de 30 años. Sin embargo, cada día se le reconoce un mayor papel en las personas mayores de 30 años, encontrándose formas idiopáticas en personas mayores de 60 años (del Seguro Social, C. C., 2007).

Por su parte, la Diabetes tipo 2 se manifiesta con una aparición más insidiosa y es comúnmente asintomática en los primeros años antes del diagnóstico. La Diabetes tipo 2 resulta de la resistencia a la insulina junto a un defecto en la excreción de insulina, en la cual, cualquiera de las dos puede predominar. La incidencia de la Diabetes tipo 2 aumenta con la edad y usualmente se presenta en adultos, pero se está diagnosticando con mayor frecuencia en personas más jóvenes a medida que aumenta la obesidad, asociado a malos hábitos de alimentación y sedentarismo (Shang *et al.*, 2015; del Seguro Social, C. C., 2007).

La presencia y progresión de las complicaciones crónicas se han asociado a diversos factores de riesgo como son la edad, el sexo, el sedentarismo, la obesidad, el tabaquismo, los antecedentes familiares de diabetes, el tiempo de evolución de la enfermedad, la hipertensión arterial, la dislipidemia y especialmente a un deficiente control metabólico (Artiaga *et al.*, 2013). Las personas latinas tienen un mayor riesgo de desarrollar esta enfermedad que personas de otras razas (del Seguro Social, C. C., 2007).

## 2.2 Historia

La enfermedad de la *diabetes mellitus* es antigua en la humanidad, los primeros reportes se remontan a 1,500 años a.C., donde los egipcios documentaron sus síntomas a través del Papyrus Ebers. 1,100 años más tarde, en el año 400 a.C. Susiuta identificó los síntomas e hizo su clasificación. Diabetes (en griego) significa "orinar de manera excesiva" y tiene como significado literal "salir con fuerza". Mellitus tiene su origen en latín y significa "muy dulce", fue adjudicado a la enfermedad en el siglo XV cuando un médico demostró que la orina del diabético es muy dulce (León Villa, 2003).

Dobson en el siglo XVI realizó por primera vez estudios en grupos de pacientes e informó que estos pacientes tenían azúcar en la sangre y en la orina y describió los síntomas de la diabetes. En el siglo XVIII, Rollo publicó sus observaciones sobre casos diabéticos describiendo muchos de los síntomas y olor a acetona (que confundió con olor a manzana) y proponiendo una dieta pobre en hidratos de carbono y rica en carne, con complementos a base de antimonio, opio y digital. Con esta dieta observó que se reducía el azúcar en la sangre y consiguió una mejora de la sintomatología en algunos casos. En la segunda mitad del siglo XIX, Bouchardat señaló la importancia de la obesidad y de la vida sedentaria en el origen de la diabetes y marcó las normas para el tratamiento dietético, basándolo en la restricción de los glúcidos y en el bajo valor calórico de la dieta (Sanchez Rivero, 2007).

La búsqueda de la hormona producida, por las células que estaban localizadas en el páncreas fue iniciada por Langerhans en 1869 y se logró conseguir el aislamiento de la insulina en 1921 por Bantín, y su primera aplicación clínica fue en 1922. En 1936, Himsworth demostró las diferencias bioquímicas entre la diabetes insulín dependiente (tipo 1) y no insulín dependiente (tipo 2). La elucidación de la estructura de la insulina fue realizada en 1954 por Sanger y colaboradores en la Universidad de Cambridge. En 1955 aparece el primer fármaco oral del grupo de las sulfonilureas (Carbutamida) para el tratamiento de la diabetes. En 1980 se utilizó por primera vez en ensayos clínicos la insulina humana recombinante. En 1990 entra al mercado el primer fármaco del grupo de los inhibidores de glucosidasas intestinales (Acarbosa). En 1995 aparece una nueva

familia de compuestos orales hipoglucemiantes que son las tiazolidinedionas con la troglitazona (Sanchez Rivero, 2007; Álvarez y Rodríguez, 2009).

## 2.3 La Diabetes en el mundo

La *diabetes mellitus* es una enfermedad no contagiosa que afecta a más de 382 millones de personas (Internacional Diabetes Federation, 2013; Organización Mundial de la Salud., 2014). Esta enfermedad se ha convertido en el tercer mayor "asesino" de la humanidad, después del cáncer y las enfermedades cardiovasculares (Ramadan *et al.*, 2017). El número de muertes relacionadas con esta enfermedad va en aumento, principalmente en las poblaciones rurales y pobres en todo el mundo y se proyecta a seguir siendo uno de los principales incapacitadores y causas de muerte en el mundo en las próximas dos décadas (Dogan *et al.*, 2015). En 2011, había 366 millones de personas con diabetes en todo el mundo y en 2030 se espera que esto aumente a 552 millones (Borah *et al.*, 2017).

Para combatir esta enfermedad, las personas y los países han invertido grandes cantidades del gasto sanitario a nivel mundial (Barceló *et al.*, 2003). Las tasas de crecimiento en el sobrepeso y la obesidad, junto con el aumento en los estilos de vida más sedentarios y alimentación poco saludable, han llevado a que la diabetes se propague de manera rápida en todo el mundo y se espera que la *diabetes mellitus* se convierta en una pandemia con efectos negativos importantes, sobre todo en la esperanza y la calidad de vida de las personas (Mudi *et al.*, 2017).

En México, la *diabetes mellitus* tipo 2 se ha convertido en la primera causa de muerte a nivel nacional con un 12% del total de fallecimientos en el país; esto equivale a seis muertes por hora debido a la diabetes. El 11% de la población mexicana entre 20 y 69 años padece diabetes y se estima que esta tendencia continuará en los próximos años. Los gastos sanitarios relacionados con esta enfermedad ascienden a 318 millones de dólares por año. La atención de la diabetes en México cuesta a los sistemas de salud

hasta 15% del total de sus recursos y es el rubro del gasto más importante del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) (Meneses Ramírez *et al.*, 2014).

Entre las causas de esta pandemia se encuentran la pérdida de los estilos de vida tradicionales y la consiguiente adopción de hábitos más occidentalizados (cambios en la alimentación y en el ejercicio que han llevado a un aumento de la obesidad y del sedentarismo) y la relativa falta de respuesta de las intervenciones para conseguir cambios en las conductas individuales y colectivas, así como cambios en los comportamientos saludables (Artiaga *et al.*, 2013).

## **2.4 Criterios de diagnóstico**

Los criterios de diagnóstico para la detección de la *diabetes mellitus* son:

- I- Síntomas de diabetes y una determinación de glucemia al azar  $> 200$  mg/dL en cualquier momento del día.
- II- Glucemia en ayunas  $\geq 126$  mg/dL. Debe ser en ayunas de al menos 8 horas.
- III- Glucemia  $\geq 200$  mg/dL a las 2 horas de una sobrecarga oral de glucosa (la sobrecarga oral de glucosa debe seguir las normas de la Organización Mundial de la Salud).
- IV- Hemoglobina Glicosilada (HbA1c mayor o igual de 6.5 %).

En ausencia de hiperglucemia inequívoca, estos criterios deben ser confirmados repitiendo alguno de ellos otro día (Fundación para la diabetes, 2016). Es importante aclarar que estos criterios son excluyentes, solo se necesita obtener uno de estos puntos de manera positiva para ser diagnosticado con dicha enfermedad.

## 2.5 Complicaciones de la diabetes

### Complicaciones a corto plazo:

- Cetoacidosis el cual es un desorden metabólico consecuencia de los altos niveles de azúcar y cetonas en sangre, que puede producir confusión, malestar, sed extrema, cansancio o dificultades respiratorias. Este efecto puede provocar un coma y, si no se trata, puede ser fatal.
- Infecciones recurrentes ya que cuando el nivel de glucosa en sangre es alto, las defensas contra las infecciones son reducidas.
- Pérdida de peso por que el cuerpo empieza a quemar las proteínas y las grasas en vez de glucosa con una mayor tendencia en la *diabetes mellitus* tipo 1 (Sánchez Álvarez, 2015)

### Complicaciones a Largo plazo:

- Enfermedades oculares, que pueden desembocar en ceguera.
- Nefropatía (lesiones renales), que pueden tener como resultado un fallo total de los riñones.
- Neuropatías (lesiones nerviosas), que, en combinación con los problemas de circulación sanguínea, pueden producir úlceras de las piernas y de los pies y también gangrena, que por su parte puede desembocar en una amputación.
- Enfermedades cardiovasculares, que afectan al corazón y a los vasos sanguíneos y que pueden producir complicaciones fatales tales como la enfermedad coronaria cardíaca y eventos cerebrales y muerte (Sánchez Álvarez, 2015)
- La formación y acumulación de los productos finales de glicación avanzada (AGEs) en muchos tipos diferentes de células que afectan la estructura extracelular e intracelular y las funciones mediante la inducción de estrés oxidativo (Hwang *et al.*, 2017). Los AGEs son proteínas o lípidos que se vuelven glicosados después de la exposición a azúcares.
- El exceso de generación de radicales libres altamente reactivos, en gran medida generados debido a la hiperglucemia, causa el estrés oxidativo, que aumenta la progresión de la diabetes y sus complicaciones a largo plazo (Dordevic *et al.*,

2017; He *et al.*, 2014). Varios estudios informaron que el estrés oxidativo tiene un vínculo directo con la patogenia de la diabetes que conducen a la resistencia a la insulina, la disfunción de las células  $\beta$  y la tolerancia a la glucosa en los sujetos hiperglucémicos. También está directamente relacionada con el daño a las proteínas y las complicaciones vasculares diabéticas tales como cardiomiopatía, retinopatía, nefropatía y neuropatía (Ablat *et al.*, 2017).

## **2.6 Medicamentos usados contra la diabetes**

Los productos antioxidantes son importantes en la prevención de la diabetes y muchas patologías relacionadas con el estrés oxidativo, arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares, el cáncer y varias propiedades de trastornos neurodegenerativos (Dogan *et al.*, 2015). Las opciones terapéuticas para tratar la *diabetes mellitus* se centran en el control glucémico, que implica una dieta adecuada, ejercicio regular, administración exógena de insulina y/o hipoglucemiantes orales (Priya *et al.*, 2016).

El control estricto de la glucemia postprandial puede prevenir o retrasar el desarrollo de estas complicaciones a largo plazo. Los hidratos de carbono digeribles se hidrolizan a azúcares monoméricos como glucosa o fructosa antes de su absorción en el tracto gastrointestinal y el almidón se digiere principalmente por las amilasas que convierten el almidón a cadenas cortas de azúcares (Gabbia *et al.*, 2017; Malunga *et al.*, 2017). La enzima  $\alpha$ -glucosidasa, es la responsable de la etapa final de la digestión del almidón y glucógeno en la dieta, y los inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa son, por lo tanto, candidatos a fármacos, así como los posibles componentes de los alimentos funcionales para retrasar la absorción postprandial de la glucosa (Ezzat *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2016). La inhibición de las enzimas hidrolizadoras de hidratos de carbono ( $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa) es una estrategia importante para manejar la hiperglucemia relacionada con la *diabetes mellitus* tipo 2 disminuyendo el aumento postprandial en los niveles de glucosa en sangre (de Sales *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2017).

Para el tratamiento farmacológico de la *diabetes mellitus* se dispone de insulina en sus distintas presentaciones y de antidiabéticos orales tales como sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa y glinidas, que se utilizan como monoterapia o en combinación para lograr una mejor regulación de la glucemia (Jung *et al.*, 2006). La insulina debe emplearse casi siempre en el tratamiento de la *diabetes mellitus* tipo 1 y en una gran cantidad de pacientes que padecen de la *diabetes mellitus* tipo 2, existen diferentes preparados comerciales que se diferencian en las sustancias añadidas con fin de modificar las características farmacocinéticas que son el inicio, pico y duración de sus efectos (Alfaro *et al.*, 2000). La tabla 1 muestra los distintos tipos de insulina actuales.

Los fármacos alópatas usados para el tratamiento de la diabetes tienen efectos adversos como lo son la hipoglucemia, náuseas, vómitos, hiponatremia, flatulencias, diarrea o estreñimiento, dolor de cabeza, aumento de peso, acidosis láctica, la anemia perniciosa, dispepsia, mareos, dolor en las articulaciones, entre otros (Thenmozhi *et al.*, 2016; Rodrigues *et al.*, 2017). Algunos fármacos orales que se utilizan para el tratamiento de la diabetes, presentan efectos secundarios dependiendo de su grupo o familia (Alfaro *et al.*, 2000):

- Las sulfonilureas, presentan un mecanismo de acción primario que consiste en estimular la secreción de insulina por las células betas pancreáticas, a través de su unión a un canal potasio dependiente de ATP. Entre los efectos secundarios de las sulfonilureas se encuentran la hiperinsulinemia, el aumento de peso, la hipoglucemia y molestias gastrointestinales.
- Las biguanidas actúan fundamentalmente en 2 formas: en el músculo, aumentan la entrada de glucosa a las células; y en el hígado, disminuyen la producción de glucosa al disminuir la neoglucogénesis y la glucogenólisis, además tienen un efecto anorexígeno, contribuyendo a la disminución de peso en el individuo. Los efectos secundarios más frecuentes son diarrea, dolor abdominal, náuseas y vómitos y, con menor frecuencia, alteraciones del gusto o malabsorción de la vitamina B12.



- Los inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa actúan inhibiendo los enzimas del enterocito de borde en cepillo que hidrolizan los oligosacáridos a disacáridos y monosacáridos que posteriormente son absorbidos, por lo que provoca un retraso en la absorción de polisacáridos complejos disminuyendo la glucemia postprandial, siempre y cuando la dieta sea rica en hidratos de carbono complejos. Los principales efectos secundarios son dolor abdominal, meteorismo y diarrea.
- Las tiazolidinedionas actúan a nivel muscular y hepático disminuyendo la resistencia a la insulina e incrementando la sensibilidad a esta, también disminuye la producción hepática de glucosa. Sus principales efectos secundarios son el aumento de peso, retención de líquidos y hemodilución.

Tabla 1. Distintos tipos de insulina actuales (Alfaro *et al.*, 2000)

	Perfil de acción (h)		
	Inicio	Pico	Duración
<b>Insulina acción ultracorta</b>			
<i>Insulina lispro</i>			
Humalog <sup>2</sup>	10-15 min	30-60 min	4-5
<b>Insulinas rápidas</b>			
<i>Insulina soluble humana</i>			
Actrapid <sup>1</sup>	½	2-4	6-8
Humalina regular <sup>2</sup>	½	2-4	6-8
<b>Insulina de acción intermedia</b>			
<i>Isofánica</i>			
- Insulatard NPH <sup>1</sup>	½	4-8	14-24
- Humulina NPH <sup>2</sup>	½	4-8	14-24
<i>Rápida+Isofánica</i>			
- Mixtard 10 <sup>3</sup> , 20 <sup>3</sup> , 30 <sup>1</sup> , 40 <sup>3</sup> , 50 <sup>3</sup>	½	3-8	14-24
- Humulina 10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50 <sup>2</sup>	½	3-8	14-24
<i>Insulinas zinc</i>			
- Monotard	2 ½	7-10	18-20
- Humulina lenta	2 ½	7-10	24-30
<b>Insulinas de acción prolongada</b>			
<i>Insulinas zinc</i>			
Ultratard	4	10-16	28
Humulina ultralenta	3	10-16	28

## 2.7 Plantas medicinales

Las plantas han sido ampliamente utilizadas en la medicina tradicional para prevenir y tratar varias patologías humanas, además de jugar un papel importante en el desarrollo de compuestos farmacológicos comerciales como la aspirina, la morfina, la digoxina, la vinblastina y la vincristina (Pereira *et al.*, 2017; Russo *et al.*, 2015). Por lo tanto, como un enfoque complementario y alternativo, las hierbas medicinales con actividad anti-hiperglucémica son cada vez más usadas por los pacientes diabéticos y profesionales de la salud (He *et al.*, 2014).

Durante los últimos años, la investigación fitoquímica se ha centrado en la identificación de plantas con la capacidad antidiabética que se pueden utilizar ya sea solas o en combinación con otras formas de tratamientos. Algunos de los nuevos compuestos bioactivos aislados de las plantas han mostrado tener una actividad antidiabética más eficiente que los fármacos orales utilizados en la medicina actual (Bustos-Brito *et al.*, 2016).

### 2.7.1 Antecedentes de estudios de diversas plantas con actividad antidiabética

Se han realizado investigaciones sobre diversas plantas usadas en la medicina tradicional para tratar la diabetes. Estas investigaciones buscan obtener tratamientos naturales, mediante la evaluación científica de estas plantas, para validar su uso seguro, es decir que no sean tóxicas para las personas, mediante diversas pruebas *in vivo* e *in vitro*. Algunos ejemplos de investigaciones relacionadas a diversas plantas para tratamientos antidiabéticos son:

-Eshiet *et al.* (2014) realizaron un estudio sobre extractos del té de *Brickellia cavanillesii* donde usaron células hepáticas (HepG2) y realizaron una prueba de citotoxicidad usando el ensayo MMT y encontraron que el extracto acuoso no inhibía el crecimiento de las células hepáticas. Además, ellos investigaron que el extracto acuoso podía tener potencial de actividad hipoglucemiante al incrementar la expresión de GLUT 2, el cual

es una proteína transportadora de glucosa que está presente en la mayoría de las células musculares y adipocitas.

-Alonso-Castro *et al.* (2008) desarrollaron un estudio sobre las hojas de *Cecropia obtusifolia* Bertol (Cecropiaceae) que es una planta utilizada para el tratamiento empírico de la diabetes tipo 2. El objetivo de este estudio fue investigar los mecanismos anti-diabéticos de extracto acuoso de *Cecropia obtusifolia* y el ácido clorogénico que es un compuesto activo de esta planta. Ellos encontraron que el extracto acuoso indujo un incremento en la adipogénesis de las células 3T3 mientras que el ácido clorogénico no afectó la adipogénesis en las concentraciones ensayadas, pero los dos, si estimulan la captación de glucosa en adipocitos no resistentes y resistentes, lo que es comparable al efecto de la rosiglitazona, que es un medicamento anti-diabético.

-Ortiz-Andrade *et al.*, (2007) realizaron un estudio sobre las partes aéreas de *Tournefortia hartwegiana* la cual es una planta medicinal mexicana que se utiliza para el tratamiento de la diabetes, la diarrea y el dolor de riñón. En su estudio, encontraron que el extracto metanólico de *Tournefortia hartwegiana* mostró tener propiedades anti-diabéticas en ratas Wistar normoglicémicas e inducidas a la diabetes por aloxano, ya que el extracto estudiado tuvo un significativo decremento en la concentración de glucosa en la prueba hipoglucemiante y mostró tener el efecto antihiperглиcemiante en las pruebas de tolerancia a la sacarosa y maltosa, debido a que el extracto evitó el aumento del pico postprandial a comparación de las ratas no tratadas y se probó *in vitro* su acción inhibitoria contra la  $\alpha$ -glucosidasa.

-Andrade-Cetto *et al.*, (2008) realizaron un estudio sobre la raíz del árbol *Malmea depressa* que es utilizada en el sureste de México por las comunidades mayas para tratar la diabetes tipo 2. Ellos estudiaron el efecto hipoglucemiante a largo plazo y la estimulación de la secreción de insulina resultante del tratamiento con extracto butanólico, utilizando ratas Wistar diabéticas inducidas por estreptomicina (STZ). Ellos demostraron que después de 30 días de administración diaria del extracto butanólico en los animales, los niveles de glucosa fueron menores en comparación con el grupo control, por lo comprobaron su efecto hipoglicémico y que al administrar el extracto una sola vez estimula la liberación de insulina.

-Ovalle-Magallanes *et al.*, (2015) estudiaron el extracto acuoso de las semillas de *Swietenia humilis* y evaluaron los efectos hipoglucemiante y antihiperглиcémico de dicho extracto en ratones normoglucémicos y ratones diabéticos (inducidos por estreptozotocina y nicotinamida (NA-STZ)). Ellos encontraron que el extracto causó una reducción en los niveles de glucosa en la sangre en los ratones normoglucémicos y diabéticos ya que al evaluar el efecto hipoglicémico, en la prueba de tolerancia a la sacarosa, el extracto redujo el pico postprandial en los ratones diabéticos. Además, evaluaron los efectos antihiperглиcémico, hipoglicemiante e hipolipidémico de *S. humilis* en ratas alimentadas con fructosa y encontraron que el extracto acuoso produjo una inhibición significativa del pico postprandial en la prueba de la tolerancia a la glucosa en comparación con el grupo tratado solo con el vehículo. Por otro lado, la administración diaria del extracto durante toda una semana provocó un significativo efecto hipoglucémico, donde se observó la reducción de la glucosa en la sangre, triglicéridos y ácido úrico en el suero sanguíneo. Sin embargo, no hubo cambios significativos en los niveles de insulina en ayunas en comparación con las ratas alimentadas sólo con fructosa sin tratamiento.

-Gutierrez *et al.* (2014) desarrollaron una investigación sobre las semillas de *Byrsonima crassifolia* que se han utilizado en el tratamiento de la diabetes, el reumatismo y la cicatrización de heridas en la medicina tradicional mexicana. Ellos evaluaron el efecto antidiabético de la administración del extracto hexánico en ratas Wistar inducidas con STZ, que mostró una reducción significativa en la glucosa en suero y aumentó la liberación de insulina de las células beta del páncreas.

-Sánchez-Salgado *et al.* (2007) realizaron una investigación sobre la corteza de *Cochlospermum vitifolium* que es una planta mexicana que se utiliza en la medicina popular para el tratamiento de la hipertensión, diabetes, hepatitis y enfermedades relacionadas. El propósito de su estudio fue evaluar las propiedades farmacológicas de diferentes extractos de la corteza de *C. vitifolium*, como agentes potenciales para el tratamiento de algunos factores relacionados con la *diabetes mellitus*. Los extractos que utilizaron para determinar su actividad hipoglucémica fueron: hexánico, diclorometánico y metanólico. El extracto hexánico mostró tener una disminución significativa de los

niveles de glucosa en sangre en ratas normoglucémicas, mientras que, el extracto metanólico mostró tener una actividad hepatoprotectora y los tres extractos de esta planta mostraron tener una actividad vasorrelajante.

-Aguilar-Santamaría *et al.*, (2009) realizaron un estudio sobre las hojas de *Tecoma stans* que se utilizan ampliamente como un remedio antidiabético tradicional en México. El objetivo de esta investigación fue evaluar *in vivo* e *in vitro* las propiedades antidiabéticas de la planta. Para ello, los autores utilizaron un extracto acuoso y evaluaron *in vitro* la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa, resultando ser similar a la acarbosa. Además, ellos observaron *in vivo* que el extracto no aumentó el pico hiperglicémico en las ratas cargadas de almidón de maíz (prueba tolerancia al almidón) a diferencia de las ratas no tratadas diabéticas inducidas por STZ. Además, para las ratas diabéticas se les administró por 21 días el extracto y este no disminuyó los niveles de glucosa, pero si los de triglicéridos y colesterol.

-Carai *et al.*, (2015) efectuaron un estudio sobre la raíz de *Salvia miltiorrhiza* que es una planta medicinal usada en china para tratar la diabetes. Ellos elaboraron un extracto a partir de esta planta y evaluaron la tolerancia al almidón y a la glucosa en ratas Wistar normoglucémicas. Encontraron que el extracto mostró una reducción en el pico postprandial de los niveles de glucosa en sangre en las dos pruebas a comparación de las ratas sin tratamiento, por lo que comprobaron el efecto antihiper glucemiante del extracto.

-Chipiti *et al.* (2015) realizaron un estudio sobre los extractos acuosos y metanólicos de la raíz y hoja de *Albizia antunesiana*. Ellos realizaron pruebas *in vitro* de la inhibición de la  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa y citotoxicidad en células HEK 293. El extracto metanólico de la raíz presentó actividad inhibitoria de la  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa y el extracto acuoso de la raíz solo presentó actividad inhibitoria contra la  $\alpha$ -glucosidasa. Además, ellos encontraron que los extractos no fueron citotóxicos, al menos en condiciones *in vitro*.

### 2.7.2 Antecedentes de las plantas estudiadas en este trabajo

*Cylindropuntia imbricata* y *Opuntia engelmannii* son plantas que se usan para tratar la diabetes en la medicina tradicional mexicana principalmente, sin embargo, no existen estudios antidiabéticos previos que hayan evaluado estas plantas. Por otra parte, se han realizado varios estudios de otras especies del genero *Opuntia* que han mostrado propiedades antidiabéticas. Por ejemplo, se encontró que *Opuntia dillenii* tenía en sus polisacáridos componentes que actuaban de forma antihiper glucemiante en ratones diabéticos inducidos por STZ (Zhao *et al.*, 2011). Además, se encontró que en un extracto acuoso de *Opuntia streptacantha*, poseía efecto antihyperglicémico en ratas inducidas por STZ, dicho efecto se debió a la obstrucción y no a la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa (Becerra-Jiménez *et al.*, 2012).

-Butterweck *et al.*, (2011) realizaron un estudio de los efectos de extractos acuosos preparados a partir de los cladodios y epicarpio de frutos *Opuntia ficus-indica*. Ellos encontraron que después de ser administrados en ratas Wistar normoglucémicas los extractos mostraban el efecto de bajar la glucosa en sangre y aumentar la insulina plasmática, pero este efecto no fue tan significativo en comparación a la glyburide que fue su control positivo.

-Laurenz *et al.* (2003) desarrollaron un estudio para comprobar la actividad hipoglicémica de un extracto obtenido a partir de *Opuntia lindheimeri* Engelm. Este extracto fue probado a diferentes dosis en cerdos normoglucémicos y en cerdos diabéticos inducidos por STZ por vía oral. Ellos encontraron que el extracto no poseía un efecto antidiabético en los cerdos normoglucémicos, sin embargo, en los cerdos diabéticos inducidos por STZ dicho extracto sí mostró el efecto hipoglucemiante, el cual fue dependiente a la dosis y al tiempo para mostrar su mejor efecto.

-Bwititi *et al.* (2000) realizaron un estudio con *Opuntia megacantha* donde utilizaron ratas Sprague-Dawley normoglucémicas y diabéticas inducidas con STZ. Durante la investigación ellos les administraron de manera oral y diariamente durante cinco semanas extracto del cladodio y midieron la glucosa sanguínea y del plasma, así como la concentración de urea y creatinina. Los autores observaron que el extracto sí poseía un

efecto hipoglicémico al disminuir los niveles de glucosa, pero el extracto era dañino para los riñones de las ratas al incrementar los niveles de urea y creatinina.

No existe referencia del efecto antidiabético de las especies de *Cylindropuntia imbricata* y *Opuntia engelmannii* por lo cual en esta investigación pretende ampliar la literatura del efecto antidiabético del género *Opuntia*.

La planta *Ibervillea sonora*, conocida como Wereke, ha sido estudiada de manera escasa en cuanto a su actividad antidiabética. En estos estudios se ha probado que su extracto acuoso y su extracto diclorometánico presentaron un efecto hipoglicémico en forma inyectada en ratas inducidas por aloxano (Alarcon-Aguilar *et al.*, 2005). En otro estudio se encontró que su extracto acuoso induce al consumo de glucosa en células de adipocitos 3T3-L1 (Zapata-Bustos *et al.*, 2014). Rivera-Ramírez *et al.* (2011) realizaron un estudio con un modelo murino utilizando ratones y produjeron un modelo con obesidad e hiperglicemia al darles una dieta alta en grasas y fructosa por 8 semanas. Después de que se administraron extractos acuosos de *I. sonora*, se comprobó que a 50 µg/mL provocó una disminución en los niveles de glucosa, triglicéridos y colesterol, mostrando así su efecto antidiabético.

Sin embargo, no se han realizados estudios más específicos de *Ibervillea sonora*, por ejemplo, que esta sea particionada en diferentes extractos, para probar una mayor gama de moléculas, además no se ha investigado su efecto anti hiperglicemiante que pruebe si tiene inhibición con la  $\alpha$ -glucosidasa, o un efecto antioxidante, como es la inhibición del DPPH.

Para el cacao, *Theobroma cacao*, se han realizado investigaciones que prueban que el extracto de semillas tostadas y fermentadas causó un efecto hipoglicemiante y hipocolesterolémico en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina (Ruzaidi *et al.*, 2005). Por otro lado, también se evaluaron “autolizados” que consisten en semillas de cacao a las que se les removieron los alcaloides, los polifenoles y las grasas y se pusieron a un pH de 3.5, y se observó que no poseían actividad contra la  $\alpha$ -glucosidasa pero sí presentaban un efecto hipoglicemiante en ratas inducidas por STZ (de Oliveira *et al.*, 2015).

Gu *et al.*, (2011) determinaron los efectos inhibitorios *in vitro* de una serie de extractos de cacao, que poseían diferentes contenidos de flavonoles y un aislado de procianidinas de cacao contra la inhibición de la  $\alpha$ -amilasa, lipasa pancreática y la fosfolipasa a2, proporcionando evidencia de que los extractos de cacao y las procianidinas de cacao son potentes inhibidores de enzimas clave en la digestión de los hidratos de carbono y lípidos *in vitro*, y estas actividades inhibidoras están relacionados con el contenido de polifenoles en extractos de cacao. Sin embargo, no usaron  $\alpha$ -glucosidasa para probar el efecto. Además, se ha probado que el brebaje de cocoa y fracciones extraídas de este preparado mostraron tener un buen efecto antihiper glucemiante al mostrar tener una buena inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa (Bellesia *et al.*, 2014).

En la revisión de la literatura consultada no encontró estudios que evalúen la semilla de cacao en forma natural sin procesarla, y que esta sea directamente particionada en extractos para probar una mayor gama de moléculas que pudieran estar en los diferentes extractos, además en el extracto metanólico de esta semilla, no ha sido evaluado el efecto antidiabético *in vivo* en ratones.

La búsqueda de productos naturales y su separación utilizando distintos disolventes con diferente polaridad es importante para la extracción de diferentes tipos de compuestos (Su *et al.*, 2012). Al incrementar gradualmente la polaridad del disolvente en la extracción secuencial se logra la separación de compuestos. La calidad y cantidad de la extracción de compuestos, a partir de las plantas en general, es el resultado de cada tipo de los diferentes disolventes usados. Existen estudios donde se ha encontrado bioactividad de extractos vegetales separándolos en grupos de compuestos extraídos, usando diferentes tipos de solventes (Ncube *et al.*, 2012).



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto antidiabético *in vivo e in vitro* de las pencas y semillas de *Opuntia engelmannii* y *Cylindropuntia imbricata*, las semillas de *Theobroma cacao* y la raíz de *Ibervillea sonora*.

#### **3.2 Objetivos particulares**

1. Colectar el material vegetal de *O. engelmannii* (penca y semilla), *C. imbricata* (penca y semilla), *T. cacao* (semillas) e *I. sonora* (raíz).
2. Obtener los extractos hexánicos, diclorometánicos, acetato de etilo y metanólicos del material vegetal.
3. Realizar una caracterización fotoquímica de los extractos obtenidos.
4. Evaluar *in vitro* la actividad citotóxica, antioxidante y antihiper glucemiante de los extractos obtenidos de las plantas estudiadas.
5. Evaluar la actividad antidiabética *in vivo* de los extractos que presenten el mejor efecto en la evaluación *in vitro*.

### **4. HIPÓTESIS**

Al menos una de las plantas a evaluar presentará un extracto con efecto antidiabético.

## 5. JUSTIFICACIÓN

La *diabetes mellitus* afecta a más de 382 millones de personas en el mundo y se le considera como una de las cinco causas principales de muerte a nivel mundial. Por lo que, se han desarrollado diversos tratamientos para contrarrestarla, sin embargo, los tratamientos existentes son caros, no son completamente efectivos y causan múltiples efectos colaterales. Algunos efectos adversos que han presentado los fármacos alópatas usados para el tratamiento de la diabetes son la hipoglucemia, náuseas, vómitos, diarrea o estreñimiento, dolor de cabeza y aumento de peso.

En los últimos años la ciencia ha puesto gran interés en investigar el efecto que presentan las plantas en la prevención y tratamiento de diversas patologías humanas, basado en la medicina tradicional, que ha estado presente desde tiempos milenarios. En el caso de la *diabetes mellitus*, un mayor número de pacientes utilizan hierbas medicinales con actividad anti-diabética para tratar su enfermedad. Debido a esto, se ha mostrado una tendencia en la investigación científica en la identificación de plantas con capacidad antidiabética para que se puedan utilizar ya sea solas o en combinación con otros tratamientos.

Por lo anterior, en esta investigación se pretende evaluar mediante ensayos *in vitro* e *in vivo* cuatro especies de plantas comunes en México, a fin de identificar al menos un extracto que posea una efectiva respuesta antidiabética y que pueda ser utilizado como una alternativa accesible en el desarrollo de tratamientos contra la diabetes.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Material vegetal

Para la realización del presente trabajo se emplearon cuatro especies de plantas *Opuntia engelmannii*, *Cylindropuntia imbricata*, *Ibervillea sonora* y *Theobroma cacao*.

El material que se recolectó de *O. engelmannii* y *C. imbricata* (nopales silvestres) corresponde a las semillas de los frutos (bayas - tunas) así como las pencas, este material fue recolectado en el municipio de Matehuala, SLP y en el municipio de China, NL, durante los meses de mayo a agosto. Para la planta *I. sonora*, conocida comúnmente como Wereke, se utilizó la raíz, la cual fue recolectada a partir de ejemplares silvestres en el municipio de Matehuala, SLP. La colecta de esta planta fue realizada en el mes de junio, pero podría realizarse en cualquier época del año. Para la planta *T. cacao*, el órgano de interés en este estudio es la semilla, la cual fue recolectada a partir de frutos de ejemplares silvestres en el estado de Tabasco. La colecta de esta planta fue realizada en el mes de julio. Se realizó la identificación taxonómica de los ejemplares recolectados y descritos anteriormente en el laboratorio de Fanerógamas, Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas y se depositó un ejemplar de cada una de ellas en el Herbario de esta Facultad.

### 6.2 Procesamiento de las muestras

El procesamiento de las muestras que se realizó para obtener las semillas de los frutos de *O. engelmannii*, *C. imbricata* y *T. cacao*, requiere que los frutos fueran pelados para eliminar la cáscara y posteriormente fueran sometidos a un prensado y colado para separar las semillas. Las semillas de las tres especies antes mencionadas se lavaron con agua corriente para eliminar restos del mesocarpio (pulpa) y fueron secadas para después ser fragmentadas en un molino. Además, este material se empacó en bolsas metálicas y se selló al vacío para su conservación.

El procesamiento de los cladodios de *O. engelmannii* y *C. imbricata* comenzó con retirar las espinas de los mismos y se lavaron adecuadamente para eliminar cualquier rastro de

tierra u otros restos vegetales, luego se secaron y se fragmentaron. Finalmente, este material se empacó en bolsas metálicas y se selló al vacío para su conservación.

El procesamiento de las raíces de *I. sonora*, para obtener las muestras, requirió que estas fueran lavadas adecuadamente con cepillo y agua para eliminar cualquier rastro de tierra u otros restos vegetales, luego se secaron y fragmentaron, finalmente este material se empacó en bolsas metálicas y se selló al vacío para su conservación de la misma manera que los materiales anteriores.

### 6.3 Obtención de los extractos

Para la obtención de los extractos se utilizó 1 Kg del material vegetal de cada planta estudiada: *O. engelmannii*, *C. imbricata*, *I. sonora* y *T. cacao*, el cual había sido previamente conservado en bolsas al vacío. El material vegetal obtenido se dejó macerar con agitación continua a temperatura ambiente por una semana con cada uno de los siguientes solventes: Hexano, Diclorometano, Acetato de etilo y Metanol en ese orden respectivamente y de manera secuencial, con el fin de incrementar la polaridad del solvente extractor. Los extractos obtenidos con el solvente correspondiente, se filtraron los extractos sobre papel filtro. Los extractos ya filtrados, se eliminó el solvente con apoyo de un rotaevaporador, se pesaron y se determinó el rendimiento de la extracción para cada planta mediante de la siguiente ecuación:

$$(\%) \text{ Rendimiento} = \frac{\text{peso obtenido}}{\text{peso inicial}} \times 100$$

Dónde:

Peso obtenido = peso obtenido del material vegetal después la extracción

Peso inicial = peso del material vegetal antes de la extracción.

Por último, se guardaron en envases de vidrio a temperatura ambiente.

### 6.4 Tamizaje fitoquímico

Para realizar el análisis cualitativo fitoquímico de las muestras de los extractos crudos vegetales las muestras se disolvieron utilizando DMSO, Etanol o Metanol. Este análisis nos permitió conocer si los extractos vegetales presentan los siguientes constituyentes

fitoquímicos: alcaloides, carbonilos, flavonoides, compuestos fenólicos, saponinas, esteroides, sesquiterpenlactonas, taninos y carbohidratos. A continuación, se presentan las técnicas utilizadas.

**Esteroles (Reacción de Liebermann-Burchard).** Se preparó el reactivo mezclando 1 mL de anhídrido acético, 1 mL de cloroformo y una gota de ácido sulfúrico concentrado. Después, en un pozo de una placa de porcelana, se depositó una pequeña parte del extracto, se mezcló con cloroformo y se le añadieron unas gotas del reactivo anteriormente preparado, se observaron los cambios de coloración. La prueba fue considerada como positiva cuando hay variaciones de color, para los esteróles generalmente se observan colores verde, azul, rojo o naranja (Kuppusamy *et al.*, 2015).

**Carbohidratos (Prueba de Fehling).** En un tubo de ensayo se colocaron 5 mL de los extractos disueltos en su disolvente correspondiente, se trató con 5 mL de las soluciones de Fehling (A y B) y se calentó la mezcla donde la aparición de un precipitado de color rojo indico la presencia de azúcares reductores (Huacuja Gonzáles *et al.*, 1995).

**Fenoles y Taninos (Prueba de Cloruro Férrico).** Se tomó un 1 mL del extracto disuelto en su disolvente correspondiente, y se puso en un tubo de ensayo y se adicionaron 2 gotas de solución de tricloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$  al 1%). La producción de un color verde, azul o negro es prueba positiva para compuestos fenólicos. En un segundo tubo de ensayo, se coloca 1 mL del extracto y se agrega grenetina, si existe turbidez o formación de precipitado se considera como una prueba positiva para la detección de taninos en la muestra (Kuppusamy *et al.*, 2015).

**Flavonoides (Prueba de Ácido Sulfúrico).** En un pozo de una placa de porcelana se depositó una muestra del extracto a evaluar, se le agregó un trocito de magnesio y unas gotas de ácido clorhídrico concentrado. La prueba se considera positiva para flavonas, isoflavonas y para flavonoles si inmediatamente se produce una coloración naranja-rojo azulosa, rojo-violeta o café-anaranjado. Las antocianinas dan una coloración azul (Huacuja Gonzáles *et al.*, 1995).

**Alcaloides (Prueba de Dragendorff).** Para llevarla a cabo se preparó un reactivo con dos soluciones: la primera se preparó mezclando 8 g de nitrato de bismuto con 20 mL de ácido nítrico (al 30%) y la segunda contenía 27.2 g de yoduro de potasio en 50 mL de

agua. Se mezclaron ambas soluciones y se dejó reposar 24 h. Esta mezcla se filtró y aforó a 100 mL con agua destilada. Se agregaron unas cuantas gotas de este reactivo a la muestra a evaluar en un tubo de ensayo, la prueba se considera positiva si se forma un precipitado color naranja-marrón (Huacuja Gonzáles *et al.*, 1995).

**Sesquiterpenlactonas (Prueba de Legal).** En un tubo de ensayo se depositó una muestra del extracto a evaluar, se le agregan 3 gotas de piridina, una gota de nitroprusiato de sodio al 5% y cuatro gotas de hidróxido de potasio 2N, las lactonas alfa y B insaturadas dan positiva esta prueba con la producción de un color rosa. Pueden darla también positiva las gamas lactonas, así como las metilcetonas. (Huacuja Gonzáles *et al.*, 1995).

**Saponinas (Ensayo espuma).** En un tubo de ensayo se depositó 1ml del extracto con su vehículo, se agregó 9 mL de agua destilada y se procedió a agitar vigorosamente por 30 a 40 s. Se dejó reposar por 30 min verticalmente. La prueba fue considerada positiva al formarse una capa de espuma mayor a 3 cm sobre la superficie del líquido (Hermosilla Carazo *et al.*, 2014).

**Insaturaciones (Prueba de bromo en tetracloruro de carbono).** En un tubo de ensayo se disolvieron 0.2 mg del extracto de la planta con 1 mL de tetracloruro de carbono y se agregó gota a gota una solución de bromo en tetracloruro de carbono al 2%. La prueba se considera positiva, si en el lapso de 1 minuto la solución de bromo se decolora (Huacuja Gonzáles *et al.*, 1995).

**Carboxilos (Prueba del bicarbonato).** Se colocó una parte del extracto a evaluar en un pozo de placa de porcelana y se añadió una solución de bicarbonato de sodio al 10 %. La prueba se considera positiva si se observa el desprendimiento de burbujas de CO<sub>2</sub> (Mayo *et al.*, 1994).

**Cumarinas (Prueba para Coumarinas).** En un tubo de ensayo con 0.5 mL del extracto y se le adicionó el mismo volumen de una solución 1N de Clorhidrato de hidroxilamina en metanol. Luego se agregaron unas gotas de KOH 2N hasta que el pH fuera mayor a 11. Se calentó la mezcla a ebullición en baño maría. Se enfrió y se llevó a pH 3 con HCl 2N lentamente. Se agregaron 2 gotas de FeCl<sub>3</sub> al 10%; si la mezcla tenía una tonalidad entre rojo y azul la prueba es positiva (Huacuja Gonzáles *et al.*, 1995).

**Quinonas (Prueba de Borntrager).** Se calentó el extracto vegetal seco con 10 mL de hidróxido de potasio alcohólico 0.5N y con peróxido de hidrogeno al 3% en un baño maría a 60°C. Se añadieron 10 gotas de ácido acético glacial. Se agregó 10 mL de benceno y se separaron las fases orgánica y acuosa utilizando una ampolla de decantación. Se le adicionaron 5 mL de hidróxido de amonio al 10% a la capa bencénica y se agitó. Si se desarrolla una coloración rojiza o rosada la prueba se considera positiva (Huacuja Gonzáles *et al.*, 1995).

**Carbonilos (Prueba de 2,4-Dinitrofenilhidracina).** Se colocó el extracto disuelto en 1 mL de etanol, se añadió 1 mL de la solución 2, 4 dinitrofenilhidrazina en un tubo de ensayo y se calentó en baño maría durante 5 min, se dejó enfriar y se indujo a la cristalización al añadir unas gotas de agua y enfriando en un baño de hielo. La prueba se considera positiva si se forma un precipitado (Huacuja Gonzáles *et al.*, 1995).

## **6.5 Viabilidad en células B16F10**

Con el fin de investigar el efecto tóxico de los extractos vegetales, se desarrolló un cultivo con células B16F10 de melanoma de ratón. Las células fueron cultivadas en el medio “Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)” y suplementadas con 10% (v/v) de suero fetal bovino en frascos de cultivo celular. Las células fueron subcultivadas en medio fresco 3 veces por semana e incubadas a 37°C en una atmosfera de 95% de aire y 5% de CO<sub>2</sub>.

Se realizó el análisis correspondiente de acuerdo con los estudios de Arunachalam *et al.* (2016), Fadipe *et al.* (2017) y Kakde *et al.* (2016); los compuestos liofilizados se resuspendieron en DMSO al 1% y en buffer de fosfatos salino x1 utilizando un sonicador. Se cultivaron las células B16F10 en placas de 96 pozos (10,000 células por pozo) y se incubaron por 24 h a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>. Se agregaron los tratamientos y el control de vehículo (DMSO al 1% y en buffer de fosfatos salino x1) y se dejó incubar por 24 h.

Se agregó el colorante azul alamar y se dejó incubar por 4.5 h; las placas se leyeron en un lector de ELISA. Se obtuvieron los resultados por triplicado y se analizaron estadísticamente, previa transformación arcoseno de los datos, utilizando una prueba de

ANOVA ( $p \leq 0.05$ ) y una prueba de comparación de medias de Tukey para determinar diferencias entre tratamientos.

### **6.6 Determinación de la Actividad antioxidante por el método DPPH**

Se realizó el ensayo de acuerdo con los estudios de Mokrani *et al.* (2016), Chahardoli *et al.*, (2017) y Ramos *et al.*, (2008); se disolvieron los compuestos en sus vehículos correspondientes (DMSO, Etanol o Metanol); se preparó el reactivo DPPH donde se pesó 1.4 mg y se aforó con 50 mL de metanol en oscuridad. Se colocaron 2 mL en el tubo de ensayo y se leyó en espectrofotómetro a 517nm en un rango de absorbancia de 0.730 a 0.770. Se tomaron los 50  $\mu$ L de cada uno de los extractos y se agregaron 1,950  $\mu$ L de solución DPPH y se agitaron en un vortex. Se dejó incubar por 20 min en lugar oscuro y se leyó en espectrofotómetro a 517nm. Se utilizó la vitamina E como control positivo.

Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de reducción para cada una de las diferentes diluciones utilizando la siguiente ecuación

$$\% \text{ Reducción} = \frac{(\text{Absorbancia Control negativo} - (\text{Absorbancia muestra}))}{\text{Absorbancia Control negativo}} \times 100$$

Después de obtener los porcentajes de reducción, se graficaron versus la concentración de la dilución correspondiente.

### **6.7 Inhibición de la $\alpha$ -glucosidasa**

Se realizó el ensayo de acuerdo al estudio de Gu *et al.*, (2011), Liu *et al.*, (2017) y Nian *et al.*, (2017) los compuestos liofilizados se re suspendieron en DMSO al 1% y en buffer de fosfatos salino x1 y se usó un sonicador. En una placa de 96 pozos se agregaron 25  $\mu$ L de los tratamientos y se incubó con 25  $\mu$ L de enzima (0.1 unidades por mL) y se dejó 15 min a incubar a 37°C (tiempo de tratamiento). Se agregaron 50  $\mu$ L de sustrato (5mM) a los tratamientos y se dejó incubar por 10 min (tiempo de reacción). Se detuvo la reacción con 50  $\mu$ L de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Se agregó a los blancos 25  $\mu$ L de los tratamientos, 50  $\mu$ L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 25  $\mu$ L de enzima y 50  $\mu$ L de sustrato. Se leyeron las placas en un lector de ELISA a 405 nm. La acarbosa fue utilizada como el control positivo.



Las absorbancias se utilizan para calcular el porcentaje de inhibición de cada tratamiento comparado con el control de actividad (100% de actividad), aplicando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{Abs control de actividad} - \text{Abs muestra})}{\text{Abs control de actividad}} \times 100$$

Dónde:

Abs muestra: Es la absorción de luz del producto de reacción enzima-sustrato en presencia del extracto, acarbosa o control negativo según sea el caso.

Abs control: Es la absorción de luz del producto de reacción enzima-sustrato en presencia del buffer de fosfato como tratamiento.

## **6.8 Ensayos *in vivo***

Para la experimentación se utilizaron ratones Balb/c de ambos sexos de cuatro semanas de edad, con un peso entre 20 y 25 g, los cuales fueron adquiridos en el Centro UNAM-Harlan (Harlan México, SA de CV) y se mantuvieron en una habitación ambientalmente controlada a  $22 \pm 3$  °C, con alternancia de 12 h de ciclo luz / oscuridad. Los ratones mantuvieron acceso libre a la dieta de pellets estándar de roedores y agua *ad libitum*. Todos los estudios se realizaron de acuerdo con los principios y directrices de la Norma Oficial Mexicana para el Cuidado y Manejo de Animales (NOM-062-ZOO-1999) con la aprobación del Comité ético institucional para el uso de animales en pruebas farmacológicas y toxicológicas de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.

A los ratones se les administró oralmente, por medio de una sonda gástrica, los extractos crudos y secos, los cuales fueron preparados, pesados y homogenizados con agua destilada, con la ayuda de un sonicador, para preparar las concentraciones farmacológicas deseadas. A continuación se detallan las pruebas realizadas con los ratones.

### **6.8.1 Toxicidad aguda**

Para esta prueba se utilizaron ratones Balb/c de ambos sexos sanos (n=4), los cuales fueron sometidos a pruebas de toxicidad aguda similares al estudio de Badole *et al.* (2006), después de haber realizado un ayuno de 8 h. Para los estudios, los ratones se

observaron continuamente durante 2 h con el fin de observar sus perfiles conductuales, neurológicos y autónomos y hasta 48 h más para observar cualquier letalidad o muerte. Se utilizaron los extractos a 250, 500 y 1000 mg/Kg en una dosis oral única.

### **6.8.2 Inducción de la diabetes experimental**

La diabetes se indujo en ratones por inyección intraperitoneal (i.p.) de estreptozotocina (STZ) disuelta en buffer de citratos a 0.1 M (pH = 4.5) a una dosis de 200 mg/kg de peso corporal. La diabetes se confirmó mediante la determinación del nivel de glucosa en sangre en ayunas a las 72 h después de la administración de estreptozotocina similar a la forma reportada (Etuk *et al.*, 2010; Swanston-Flatt *et al.* 1990). En base al rango estipulado por Etuk *et al.*, (2010), que corresponde de 180 a 500 mg/dL en la glucosa sanguínea, para confirmar la inducción de diabetes, sólo se consideraron a los ratones con niveles de 200 mg/dL como diabéticos para este estudio.

### **6.8.3- Efecto hipoglucemiante a corto plazo de los extractos en ratones normoglucémicos**

En base al estudio de Anaya-Eugenio *et al.* (2014) se evaluó la actividad hipoglucémica aguda en ratones normoglucémicos, los cuales fueron divididos en 5 grupos que contenían 5 animales cada uno. Después de que los ratones fueron dejados con 4 h de ayuno, se les administraron los extractos como sigue: a los grupos I, II y III se trataron con los extractos: metanólico de la semilla de *Opuntia engelmannii* (Meta S.O E) a 300 mg/Kg, acetato de etilo de la semilla de *Cylindropuntia inbriata* (Ace S.O I) a 300 mg/Kg y metanólico de *Teobroma cacao* (Meta Cacao) a 300 mg/Kg respectivamente, mientras que, los grupos de control (IV y V) se administraron oralmente con vehículo (agua destilada) y glibenclamida (GLI, 10 mg/kg), respectivamente.

Para medir el efecto hipoglucemiante se tomaron muestras de sangre de la vena de la cola a 0, 1.5, 3, 5, 7 y 9 h después de la administración, mediante una pequeña incisión al final de la cola. Las respuestas de los tratamientos de los niveles de glucosa fueron calculadas por el método del área bajo la curva.

#### **6.8.4 Efecto hipoglucemiante a corto plazo de los extractos en ratones diabéticos inducidos por STZ**

En base al estudio de Wan *et al.* (2013) se evaluó la actividad hipoglucémica aguda en ratones inducidos a diabetes por STZ, los cuales fueron divididos en 5 grupos que contenían 3 animales cada uno. Después de que los ratones fueron dejados con 4 h de ayuno, se les administraron los extractos como sigue: los grupos I, II y III se trataron con los extractos de Meta S.OE 300 mg/Kg, Ace S.OI 300 mg/Kg y Meta Cacao 300 mg/Kg respectivamente, mientras que los grupos de control (IV y V) se administraron oralmente con vehículo (agua destilada) y glibenclamida (GLI, 10 mg/kg), respectivamente. Se tomaron muestras de sangre de la vena de la cola a 0, 1.5, 3.5, 7 y 9 h después de la administración mediante una pequeña incisión al final de la cola. Las respuestas de los tratamientos de los niveles de glucosa fueron calculadas por el método del área bajo la curva.

#### **6.8.5 Prueba oral de tolerancia al almidón en ratones normo glucémicos.**

Siguiendo el estudio de Wan *et al.*, (2013), los ratones fueron clasificados en 8 grupos de 5 ratones, después de dejar a los ratones en ayuno por 8 h, estos fueron tratados como sigue: del grupo del I al VI con los extractos de meta S.OE 300 mg/Kg, ace S.OI 300 mg/Kg, meta Cacao 300 mg/Kg, meta S.OE 150 mg/Kg, y ace S.OI 150 mg/Kg y meta Cacao 150 mg/Kg, respectivamente, mientras que el grupo VII se le trató con acarbosa a 15 mg/Kg como el control positivo y el grupo VIII, se le trató con el vehículo (agua) como el control negativo. A los 30 min después de los tratamientos se les administró 3000 mg/Kg de almidón y se midió los niveles de glucosa a los 0, 30, 60, 90, 120 y 180 min. Las respuestas de los tratamientos de los niveles de glucosa fueron calculadas por el método del área bajo la curva.

#### **6.8.6 Prueba oral de tolerancia a la sacarosa en ratones normo glucémicos.**

Siguiendo el estudio de Wan *et al.* (2013), los ratones fueron clasificados en 8 grupos de 5 ratones, después de dejar a los ratones en ayuno por 8 h, estos fueron tratados como sigue: del grupo del I al VI con los extractos de meta S.OE 300 mg/Kg, ace S.OI 300 mg/Kg, meta Cacao 300 mg/Kg, meta S.OE 150 mg/Kg, y ace S.OI 150 mg/Kg y meta

Cacao 150 mg/Kg, respectivamente, mientras que el grupo VII se le trató con acarbosa a 15 mg/Kg como el control positivo y el grupo VIII, se le trató con el vehículo (agua) como el control negativo. A los 30 min después de los tratamientos se les administró 3000 mg/Kg de sacarosa y se midió los niveles de glucosa a los 0, 30, 60, 90, 120 y 180 min. Las respuestas de los tratamientos de los niveles de glucosa fueron calculadas por el método del área bajo la curva.

#### **6.8.7 Prueba oral de tolerancia al almidón en ratones diabéticos inducidos por STZ**

Siguiendo el estudio de Wan *et al.*, (2013), los ratones diabéticos fueron clasificados en 8 grupos de 3 ratones, después de dejar a los ratones en ayuno por 8 h, estos fueron tratados como sigue: del grupo del I al VI con los extractos de meta S.OE 300 mg/Kg, ace S.OI 300 mg/Kg, meta Cacao 300 mg/Kg, meta S.OE 150 mg/Kg, y ace S.OI 150 mg/Kg y meta Cacao 150 mg/Kg, respectivamente, mientras que el grupo VII se le trató con acarbosa a 15 mg/Kg como el control positivo y el grupo VIII, se le trató con el vehículo (agua) como el control negativo. A los 30 min después de los tratamientos se les administró 3000 mg/Kg de almidón y se midió los niveles de glucosa a los 0, 30, 60, 90, 120 y 180 min. Las respuestas de los tratamientos de los niveles de glucosa fueron calculadas por el método del área bajo la curva.

#### **6.8.8 Prueba oral de tolerancia a la sacarosa en ratones diabéticos inducidos por STZ**

Siguiendo el estudio de Wan *et al.* (2013), los ratones diabéticos fueron clasificados en 8 grupos de 3 ratones, después de dejar a los ratones en ayuno por 8 h, estos fueron tratados como sigue: del grupo del I al VI con los extractos de meta S.OE 300 mg/Kg, ace S.OI 300 mg/Kg, meta Cacao 300 mg/Kg, meta S.OE 150 mg/Kg, y ace S.OI 150 mg/Kg y meta Cacao 150 mg/Kg, respectivamente, mientras que el grupo VII se le trató con acarbosa a 15 mg/Kg como el control positivo y el grupo VIII, se le trató con el vehículo (agua) como el control negativo. A los 30 min después de los tratamientos se les administró 3000 mg/Kg de sacarosa y se midió los niveles de glucosa a los 0, 30, 60, 90, 120 y 180 min. Las respuestas de los tratamientos de los niveles de glucosa fueron calculadas por el método del área bajo la curva.

#### **6.8.9 Efecto hipoglucemiante a largo plazo de los extractos en ratones diabéticos inducidos por STZ**

Siguiendo el estudio de Wan *et al.* (2013), los ratones diabéticos fueron clasificados en 5 grupos de 5 ratones. Los ratones fueron tratados durante 4 semanas diaramente como sigue: del grupo del I al III con los extractos de meta S.OE 300 mg/Kg, ace S.OI 300 mg/Kg, meta Cacao 300 mg/Kg respectivamente, mientras que el grupo IV se le trató con glibenclamida a 10 mg/Kg como el control positivo y el grupo VIII, se le trató con el vehículo (agua) como el control negativo. Adicionalmente se agregó un grupo de ratones normoglucémicos con solo agua como control extra. Semanalmente los ratones tratados fueron puestos en ayuno por 8 h y se les midió los niveles de glucosa en sangre.

#### **6.8.10 Prueba oral de tolerancia a la glucosa en ratones diabéticos inducidos por STZ**

Siguiendo el estudio de Wan *et al.* (2013), se realizó la prueba oral de tolerancia a la glucosa en los ratones diabéticos con 8 h de ayuno, justamente un día antes de ser sacrificados. En la prueba oral se les administró a los ratones los extractos y después de 30 min se les administró 2000 mg/kg de glucosa y se midió los niveles de glucosa a los 0, 30, 60, 90 y 120 min. Las respuestas de los tratamientos de los niveles de glucosa fueron calculadas por el método del área bajo la curva.

#### **6.8.11 Colecta de plasma y determinación metabólica.**

Los ratones fueron sacrificados e inmediatamente se recolectó la sangre por punción cardiaca en jeringas con anticoagulante (EDTA), la cual se colocó en tubos. Las muestras sanguíneas fueron centrifugadas (1500x g, por 10 min) y se recolectó el plasma, el cual fue almacenado a -80°C. En las muestras colectadas se determinó: triglicéridos, colesterol e insulina por medio de kits.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Tamizaje fitoquímico

En esta etapa se realizaron las pruebas fitoquímicas, para la detención de grupos funcionales y compuestos químicos, en los extractos de hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol de la raíz de *I. sonora*, así como en las pencas y semillas de *O. engelmannii*, *C. imbricata* y en la semilla T. cacao.

En la tabla 2 se muestran los resultados de la caracterización fitoquímica de los extractos evaluados.

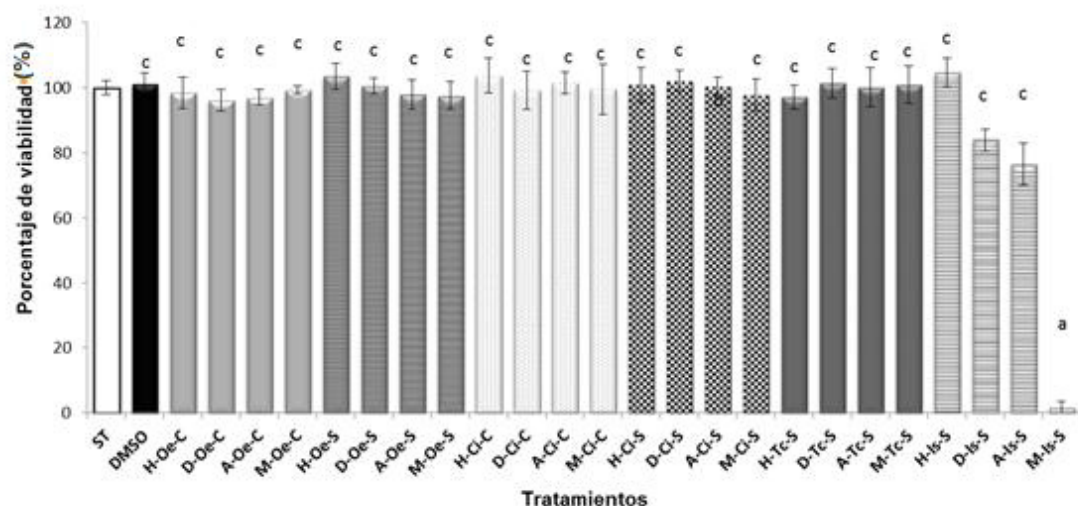
**Tabla 2. Tamizaje fitoquímico de los extractos de las plantas estudiadas**

Grupo Funcional	<i>O. engelmannii</i>								<i>C. imbricata</i>								<i>I. sonora</i>				<i>T. cacao</i>			
	Penca				Semilla				Penca				Semilla				Raíz				Semilla			
	H	D	A	M	H	D	A	M	H	D	A	M	H	D	A	M	H	D	A	M	H	D	A	M
Insaturaciones	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Carbonilos	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Taninos	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
Flavonoides	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
Triterpenos	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Saponinas	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Carboxilios	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
Cumarinas	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
Alcaloides	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Lactonas	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
Quinonas	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

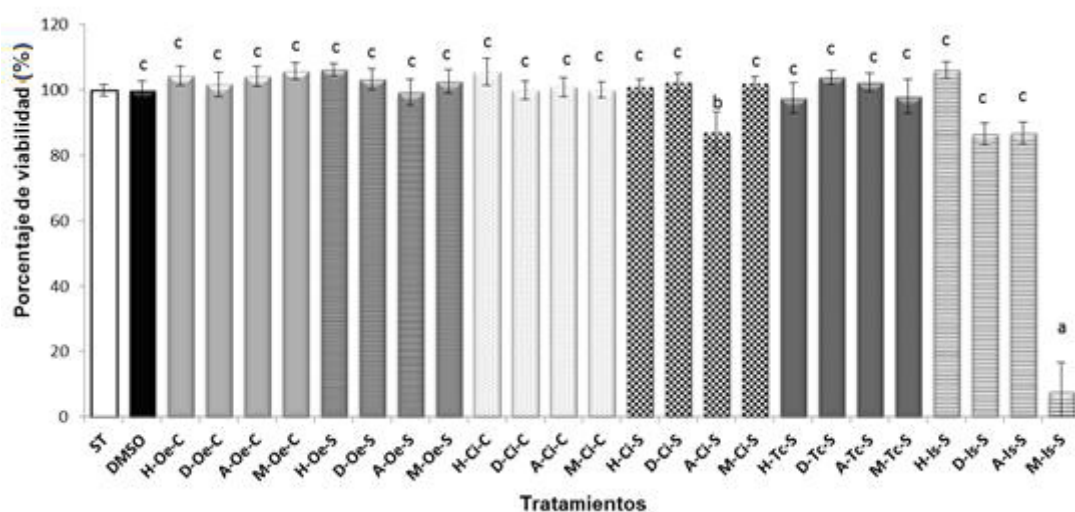
+: Grupo funcional presente, -: grupo funcional ausente. Extracto H: Hexánico, Extracto D: diclorometano, Extracto A: acetato de etilo y Extracto M: metanol.

### 7.2 Viabilidad celular

En esta etapa se evaluó el efecto sobre la viabilidad de células B16F10 de los 24 extractos a concentraciones de 100 y 200 µg/mL, por el método de azul alamar. Los resultados observados mostraron que los extractos no son tóxicos en las células B16F10, con excepción del extracto metanólico de *I. sonora*, el cual mostró tener una toxicidad alta a estas concentraciones. En las figuras 1 y 2 se presentan los resultados obtenidos.

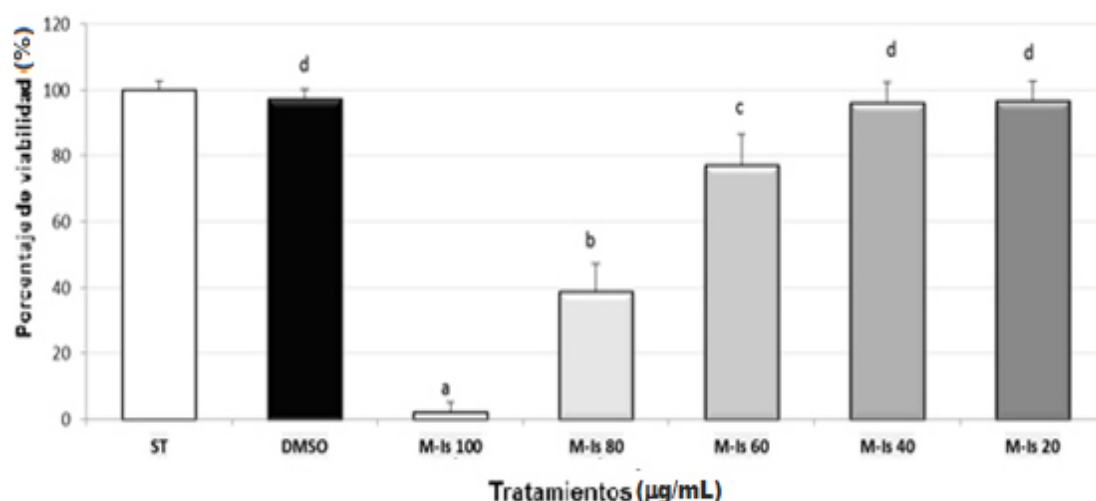


**Figura 1. Efecto de los extractos de las plantas en estudio a una concentración de 100 µg/mL sobre la viabilidad (%) sobre células B16F10.** Promedios y desviación estándar de los tratamientos en experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ( $p \leq 0.05$ ). ST: sin tratamiento; DMSO: Dimetilsulfóxido, H: extracto hexánico, D: extracto diclorometánico, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólicos, Oe: *Opuntia engelmannii*, Ci: *Cylindropuntia imbricata*, TC: *Theobroma cacao*, Is: *Ibervillea sonora*, C: cladodio, S: semilla, R: raíz



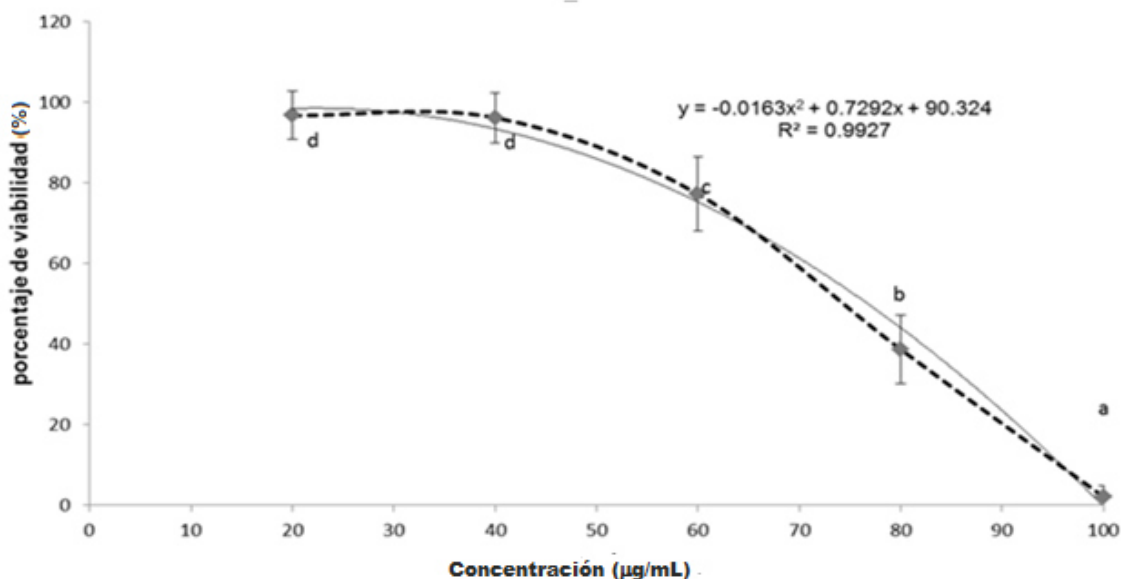
**Figura 2. Efecto de los extractos de las plantas en estudio a una concentración de 200 µg/mL sobre la viabilidad (%) en células B16F10.** Promedios y desviación estándar de los tratamientos en experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ( $p \leq 0.05$ ). ST: sin tratamiento, DMSO: Dimetilsulfóxido, H: extracto hexánico, D: extracto diclorometánico, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólicos, Oe: *Opuntia engelmannii*, Ci: *Cylindropuntia imbricata*, TC: *Theobroma cacao*, Is: *Ibervillea sonora*, C: cladodio, S: semilla, R: raíz.

Para conocer el patrón de toxicidad del extracto metanólico de *I. sonorae*, que presentó toxicidad en concentraciones de 100 µg/mL y 200 µg/mL, se evaluó este extracto a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 µg/mL. Como se puede observar en la figura 3 este extracto mostró un patrón positivo donde al aumentar la dosis, incrementa la respuesta tóxica, surgiendo la dosis letal media en 76.90 µg/mL. La figura 4 presenta la curva de la dosis letal media del extracto metanólico de *I. sonorae*.



**Figura 3. Efecto del extracto metanólico de *I. sonorae* a diferente concentración sobre la viabilidad (porcentaje) en células B16F10.** Promedios y desviación estándar de los tratamientos en experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ( $p \leq 0.05$ ). ST: sin tratamiento, DMSO: Dimetilsulfóxido, M: extracto metanólico. Is: Ibervillea sonorae, R: raíz.

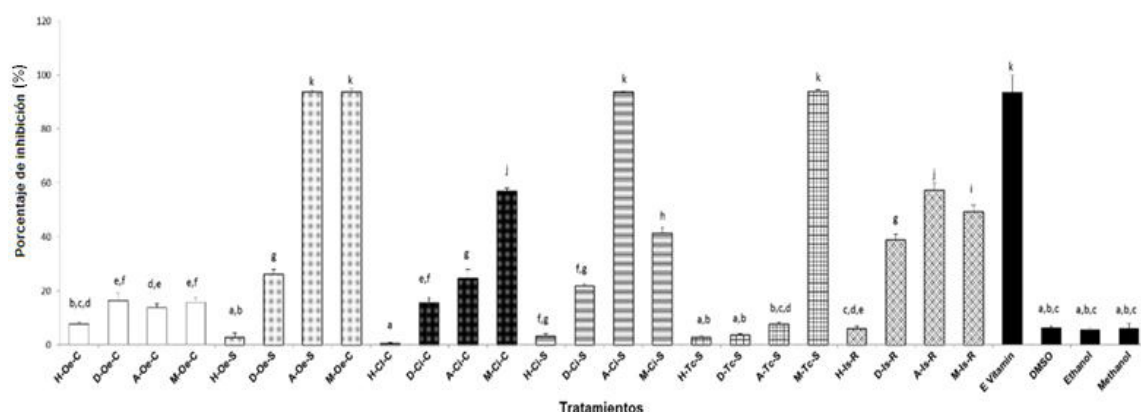




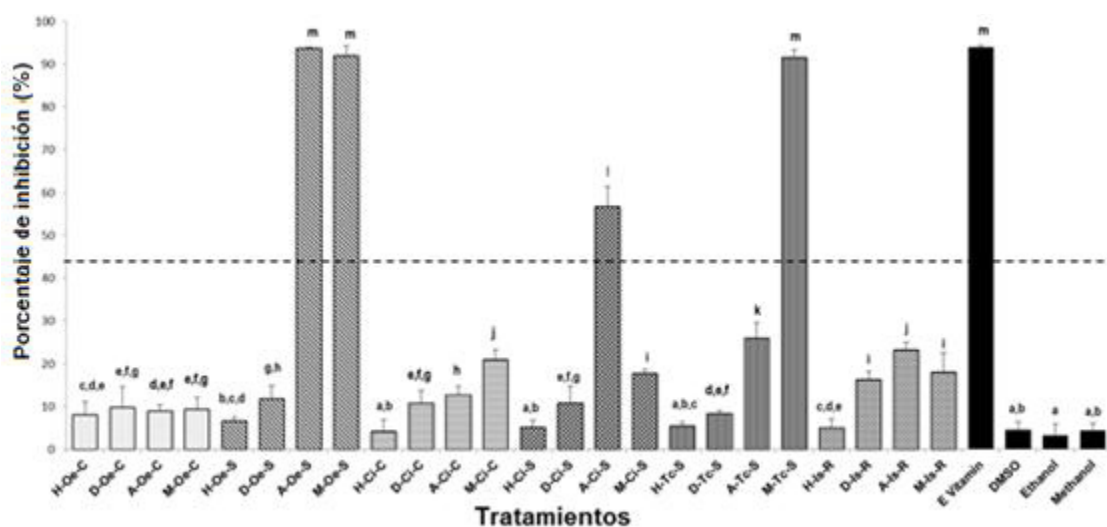
**Figura 4.** Curva de viabilidad del efecto del extracto metanólico de *Ibervillea sonora* a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 µg/mL en células B16F10. Promedios y desviación estándar de los tratamientos en experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ( $p \leq 0.05$ ).

### 7.3 Actividad antioxidante

Mediante el método de DPPH se evaluó la actividad antioxidante de los extractos antes mencionados, a 50 y 200 µg/mL. Los resultados obtenidos presentan las respectivas curvas de inhibición de los extractos activos, donde siete extractos presentaron actividad antioxidante a 200 µg/mL. Sin embargo, a 50 µg/mL sólo cuatro extractos presentaron actividad antioxidante, lo que los convierte en los extractos más activos en este estudio. Estos cuatro extractos son: el extracto acetato de etilo y el extracto metanólico de la semilla de *O. engelmannii* con un 93.67% y 91.95% respectivamente, el extracto acetato etilo de *C. imbricata* con un 56.80% y el extracto metanólico de *T. cacao* con un 91.52%, resultados similares a la vitamina E como control positivo, con un 93.87%. En las tablas 5 y 6 se presentan los resultados obtenidos.

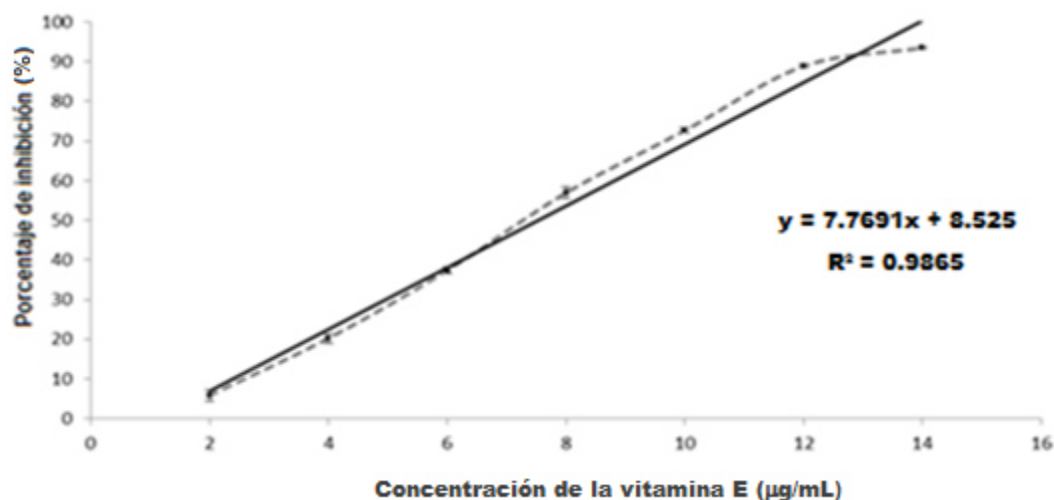


**Figura 5. Actividad antioxidante de los extractos de las plantas en estudio mediante el método de DPPH a una concentración de 200 µg/mL.** Promedios y desviación estándar de los tratamientos en experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ( $p \leq 0.05$ ). Vitamina E: Control positivo, DMSO: Dimetilsulfóxido, H: extracto hexánico, D: extracto diclorometánico, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólicos, Oe: *Opuntia engelmannii*, Ci: *Cylindropuntia imbricata*, TC: *Theobroma cacao*, Is: *Ibervillea sonora*, C: cladodio, S: semilla, R: raíz.

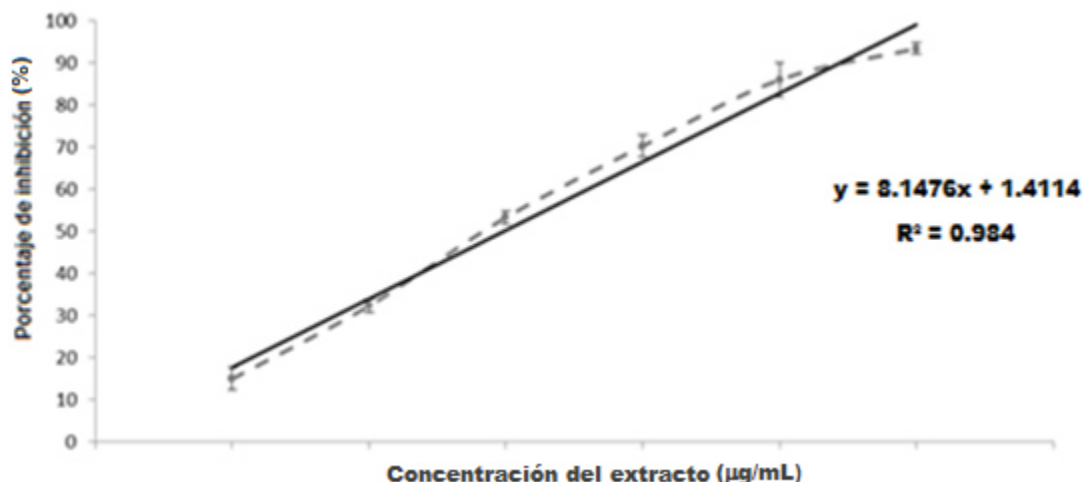


**Figura 6. Actividad antioxidante de los extractos de las plantas en estudio mediante el método de DPPH a una concentración de 50 µg/mL.** Promedios y desviación estándar de los tratamientos en experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ( $p \leq 0.05$ ). Vitamina E: Control positivo DMSO: Dimetilsulfóxido, H: extracto hexánico, D: extracto diclorometánico, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólico. Oe: *Opuntia engelmannii*, Ci: *Cylindropuntia imbricata*, TC: *Theobroma cacao*, Is: *Ibervillea sonora*, C: cladodio; S: semilla, R: raíz.

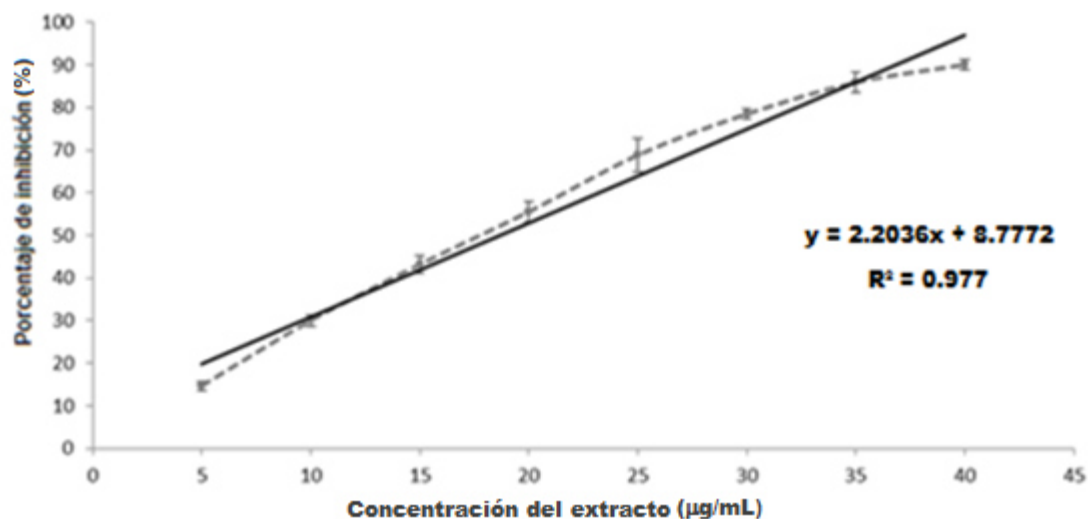
Se evaluaron los extractos con el fin de obtener el IC<sub>50</sub>, los resultados mostraron que tres de los siete tratamientos activos, los extractos acetato de etilo y metanólico de la semilla de *O. engelmannii*, el extracto Acetato etilo de *C. imbricata* y el extracto metanólico de *T. cacao* mostraron tener un IC<sub>50</sub> similar a la vitamina E. Además, el extracto metanólico de *T. cacao* mostró tener IC<sub>50</sub> menor a la vitamina E, lo que significa que este extracto es más efectivo inhibiendo el DPPH que la vitamina E. Por el contrario, el extracto de la penca de *C. imbricata*, y los extractos acetato de etilo y metanólico de *I. sonoare* mostraron tener una inferior actividad a la vitamina E. En las figuras 7 a la 14 se presentan las curvas de inhibición de los extractos que presentaron una actividad antioxidante relevante, además del control positivo (Vitamina E).



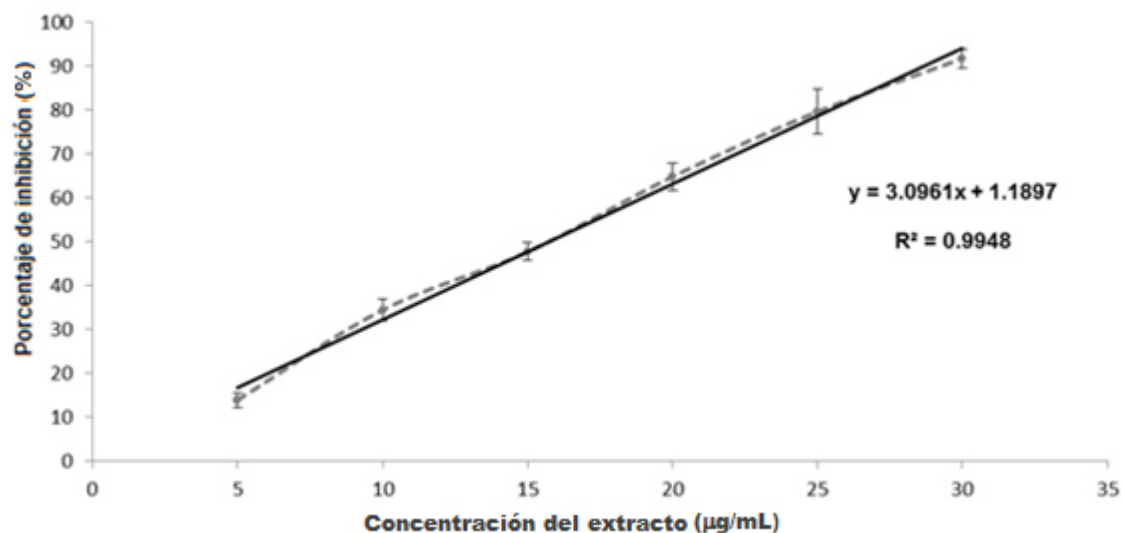
**Figura 7. Inhibición de DPPH por la Vitamina E.** Porcentaje de inhibición de 0.0546 mg de DPPH (1950 µL) con tiempo de incubación de 20 min con 50 µL de volumen de los tratamientos en oscuridad. Valores promedio y desviación estándar de los porcentajes de inhibición en experimentos por triplicado.



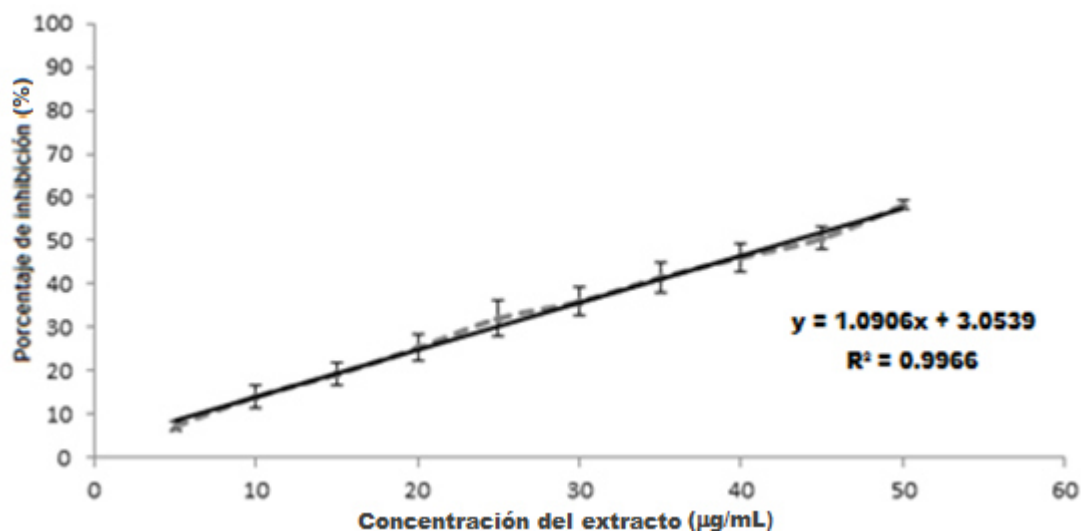
**Figura 8. Inhibición de DPPH por extracto metanólico de la semilla de *T. cacao*.** Porcentaje de inhibición de 0.0546 mg de DPPH (1950 µL) con tiempo de incubación de 20 min con 50 µL de volumen de los tratamientos en oscuridad. Valores promedio y desviación estándar de los porcentajes de inhibición en experimentos por triplicado.



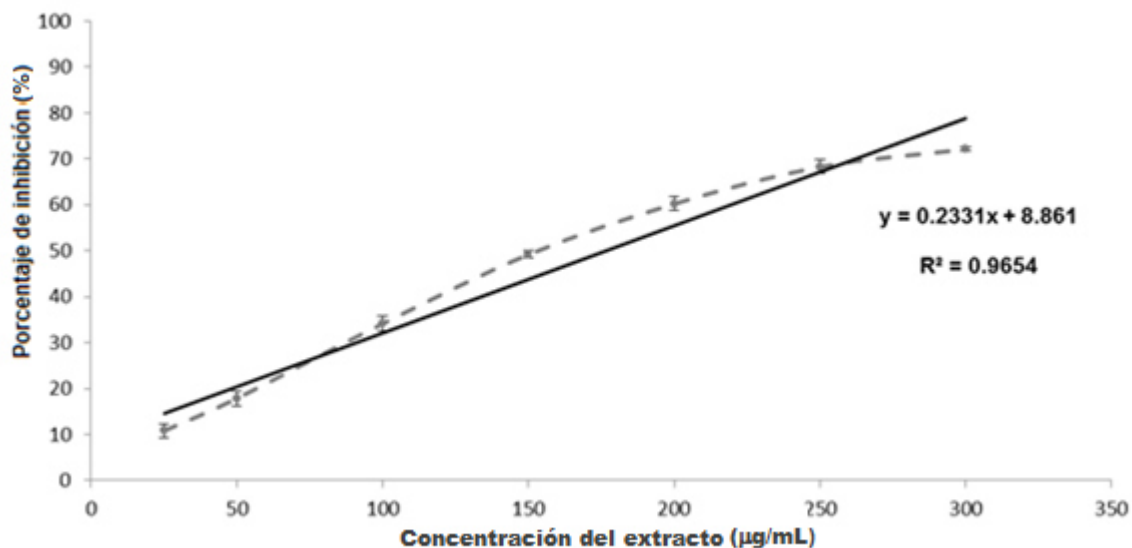
**Figura 9. Inhibición de DPPH por extracto acetato de etilo de la semilla de *O. engelmannii*.** Porcentaje de inhibición de 0.0546 mg de DPPH (1950 µL) con tiempo de incubación de 20 min con 50 µL de volumen de los tratamientos en oscuridad. Valores promedio y desviación estándar de los porcentajes de inhibición en experimentos por triplicado.



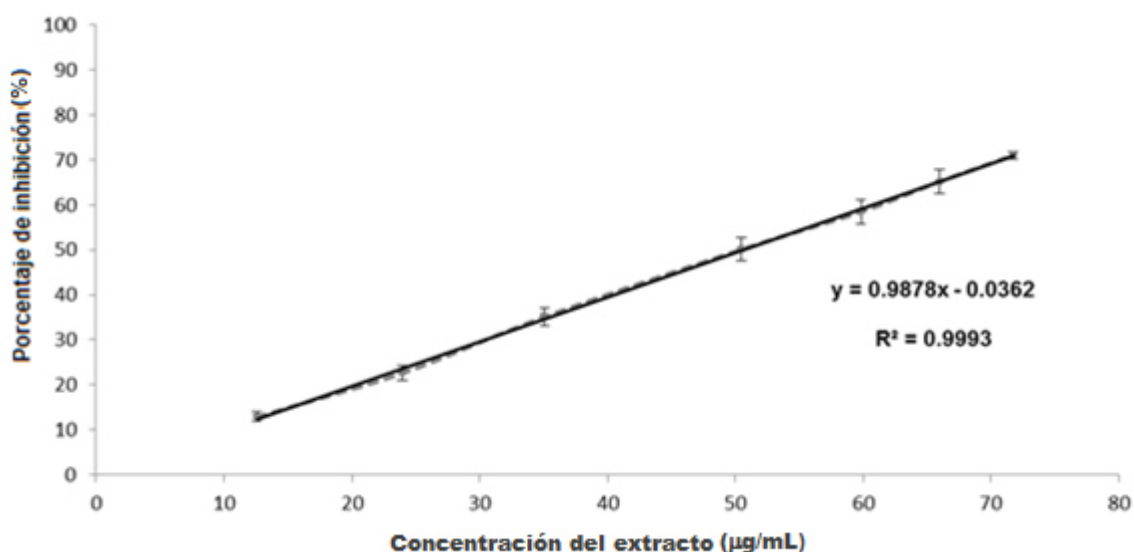
**Figura 10. Inhibición de DPPH por extracto metanólico de la semilla de *O. engelmannii*.** Porcentaje de inhibición de 0.0546 mg de DPPH (1950 µL) con tiempo de incubación de 20 min con 50 µL de volumen de los tratamientos en oscuridad. Valores promedio y desviación estándar de los porcentajes de inhibición en experimentos por triplicado.



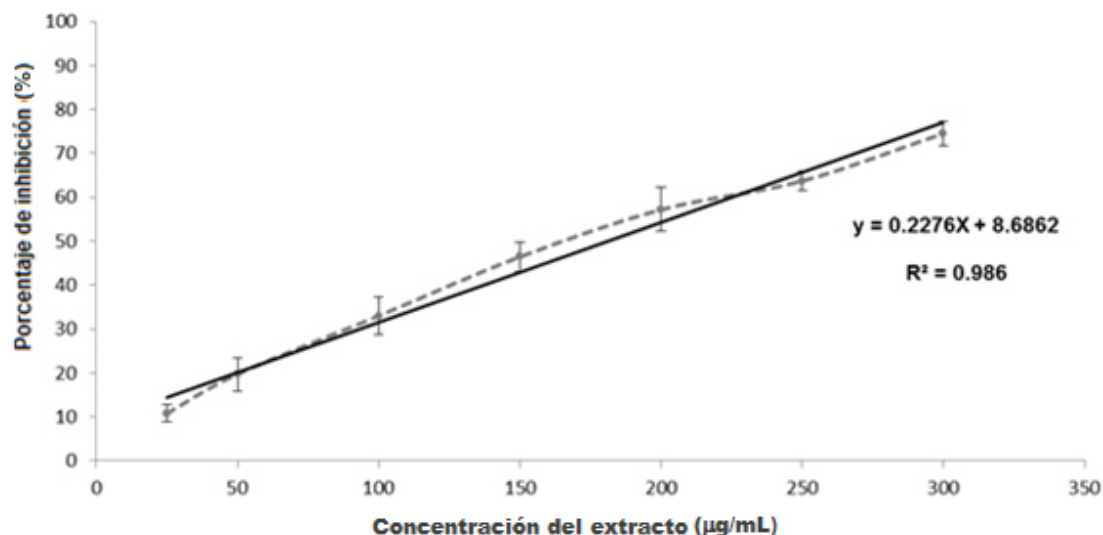
**Figura 11. Inhibición de DPPH por extracto acetato de etilo de la semilla de *C. imbricata*.** Porcentaje de inhibición de 0.0546 mg de DPPH (1950 µL) con tiempo de incubación de 20 min con 50 µL de volumen de los tratamientos en oscuridad. Valores promedio y desviación estándar de los porcentajes de inhibición en experimentos por triplicado.



**Figura 12. Inhibición de DPPH por extracto metanólico de la semilla de *C. imbricata*.** Porcentaje de inhibición de 0.0546 mg de DPPH (1950 µL) con tiempo de incubación de 20 min con 50 µL de volumen de los tratamientos en oscuridad. Valores promedio y desviación estándar de los porcentajes de inhibición en experimentos por triplicado.



**Figura 13. Inhibición de DPPH por extracto acetato de etilo de la raíz de *I. sonorae*.** Porcentaje de inhibición de 0.0546 mg de DPPH (1950 µL) con tiempo de incubación de 20 min con 50 µL de volumen de los tratamientos en oscuridad. Valores promedio y desviación estándar de los porcentajes de inhibición en experimentos por triplicado.



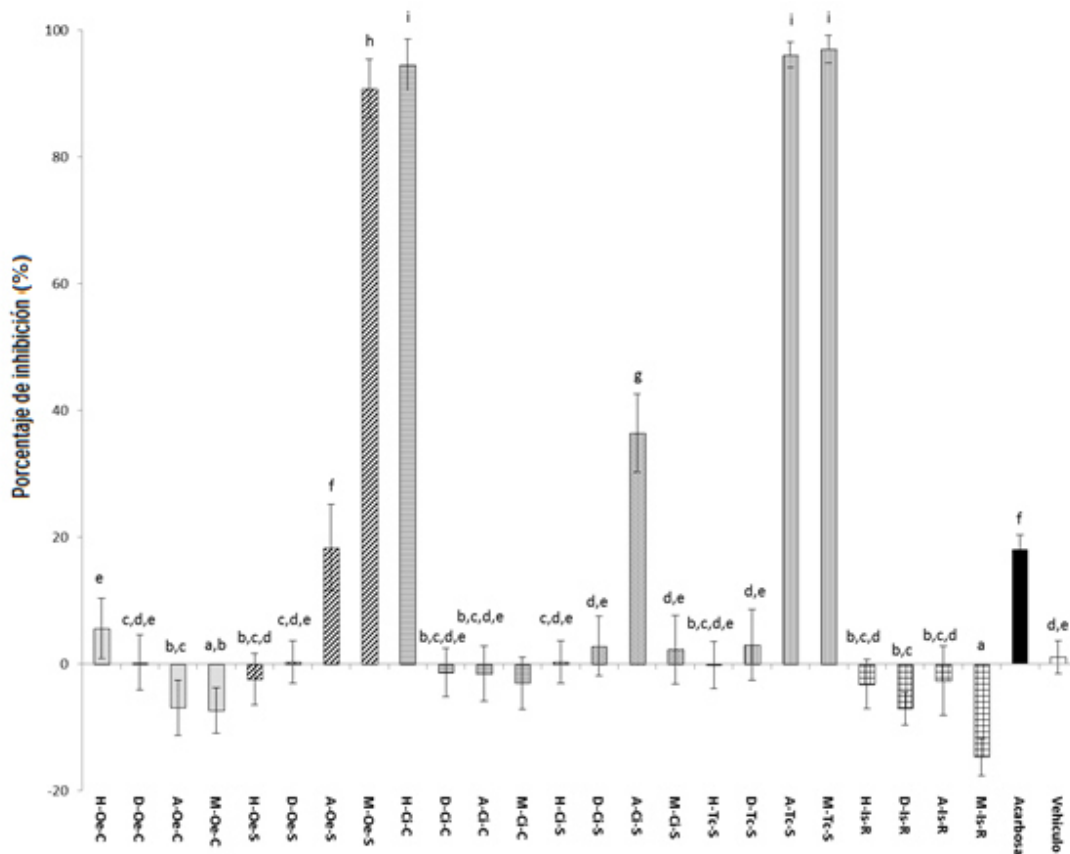
**Figura 14. Inhibición de DPPH por extracto metanólico de la raíz de *I. sonorae*.** Porcentaje de inhibición de 0.0546 mg de DPPH (1950 µL) con tiempo de incubación de 20 min con 50 µL de volumen de los tratamientos en oscuridad. Valores promedio y desviación estándar de los porcentajes de inhibición en experimentos por triplicado.

#### 7.4 Inhibición de la $\alpha$ -glucosidasa

Se evaluó la actividad antihiperlicemiante de los extractos de las plantas en estudio *in vitro* por el método de la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa a 200 µg/mL y se obtuvieron las curvas de inhibición de los compuestos activos. Los resultados mostraron que los extractos que presentaron actividad inhibitoria fueron seis. De la penca de *C. imbricata*, el extracto hexánico inhibió el 94.57% de la enzima, de la semilla de *O. engermanni*, los extractos de acetato de etilo y metanólico inhibieron el 18.34% y el 93.59% respectivamente, Para la semilla *C. imbricata* el extracto de acetato de etilo inhibió el 38.45%, de la semilla de *T. cacao* los extractos de acetato de etilo y metanólico inhibieron el 95.79% y el 95.92%, respectivamente, mientras acarbose inhibió el 18.77%. Los otros 18 extractos no mostraron tener una actividad inhibitoria significativa,

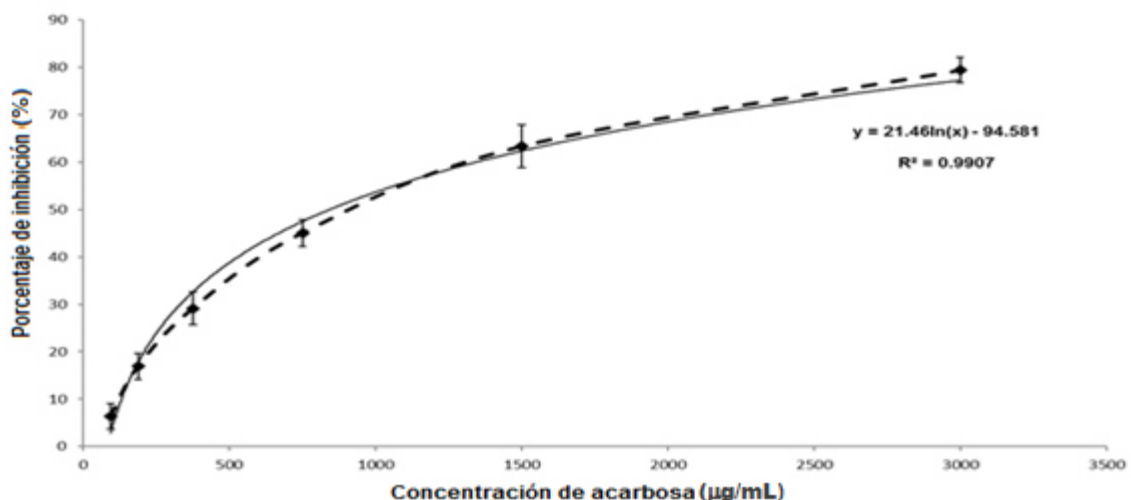
Para los seis tratamientos que presentaron la actividad inhibitoria de la  $\alpha$ -glucosidasa se obtuvo su IC<sub>50</sub>, el cual fue menor al de la acarbose (control positivo), un fármaco

utilizado para tratar la *diabetes mellitus* tipo 2. En la Figura 15 se presentan los resultados obtenidos.

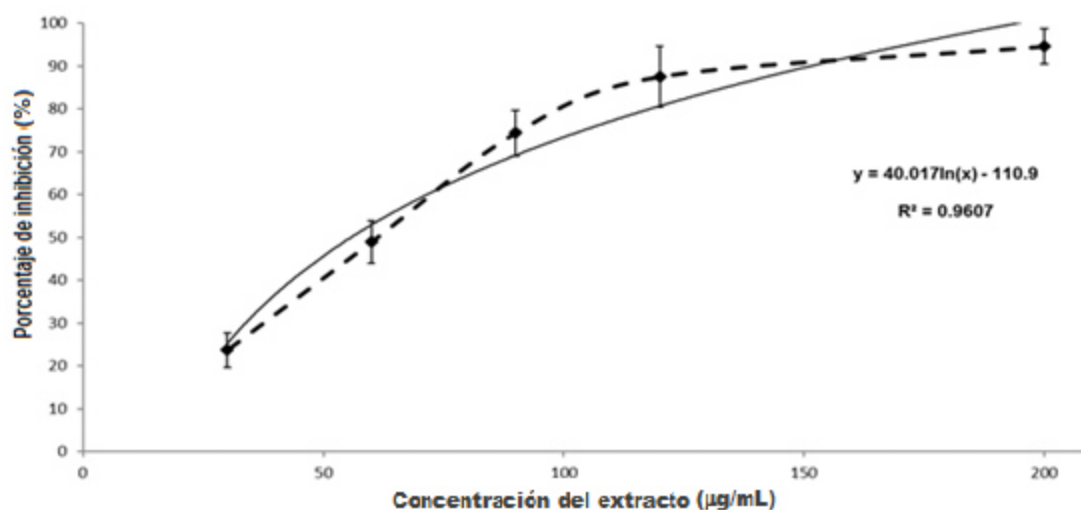


**Figura 15. Porcentaje de inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa (25 mL, 0.1 unidades/mL; 15 min de incubación a 35 °C) por los diferentes extractos a 200  $\mu$ g/mL en 10 min de tiempo de reacción con 50 mL PNGP a mM/mL.** Promedios y desviación estándar de los tratamientos en experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ( $p \leq 0.05$ ). Acarbosa: Control positivo, Vehículo: DMSO; Sustrato: PNGP (4-Nitrophenyl  $\beta$ -D-glucopyranoside). H: extracto hexánico, D: extracto diclorometánico, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólico, Oe: *O. engelmannii*, Ci: *C. imbricata*, TC: *Theobroma cacao*, Is: *Ibervillea sonora*, C: cladodio, S: semilla, R: raíz





**Figura 16.** Curva de porcentaje de inhibición de 25 µL de  $\alpha$ -glucosidasa (0.1 unidades/mL) incubada durante 15 min a 35 °C, por diferentes concentraciones de acarbosa (µg/mL) con 10 min de tiempo de reacción con 50 µL PNGP (2 mM/mL) y detenido con 50 mL 0.2 M de  $\text{NaCO}_3$ . Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en experimentos por triplicado. Se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos (ANOVA, Tukey,  $P \leq 0.05$ ).



**Figura 17.** Curva de porcentaje de inhibición de 25 µL de  $\alpha$ -glucosidasa (0.1 unidades/mL) incubada durante 15 min a 35 °C, por diferentes concentraciones (µg/mL) del extracto hexánico del cladodio de *C. imbricata* con 10 min de tiempo de reacción con 50 µL PNGP (2 mM/mL) y detenido con 50 mL 0.2 M de  $\text{NaCO}_3$ . Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en experimentos por triplicado. Se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos (ANOVA, Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

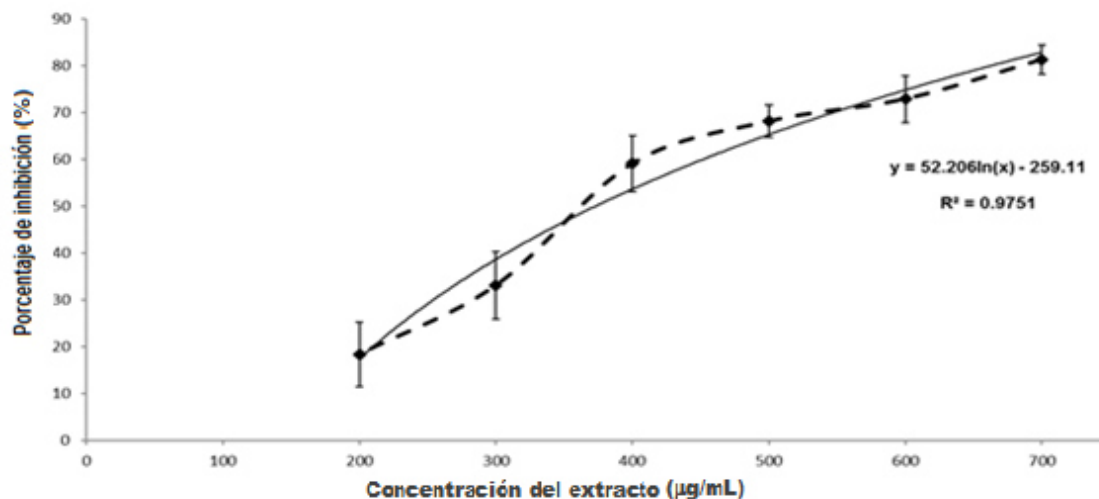


Figura 18. Curva de porcentaje de inhibición de 25  $\mu\text{L}$  de  $\alpha$ -glucosidasa (0.1 unidades/mL) incubada durante 15 min a 35 °C, por diferentes concentraciones ( $\mu\text{g/mL}$ ) del extracto acetato de etilo de la semilla de *O. engelmannii* con 10 min de tiempo de reacción con 50  $\mu\text{L}$  PNGP (2 mM/mL) y detenido con 50 mL 0.2 M de  $\text{NaCO}_3$ . Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en experimentos por triplicado. Se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos (ANOVA, Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

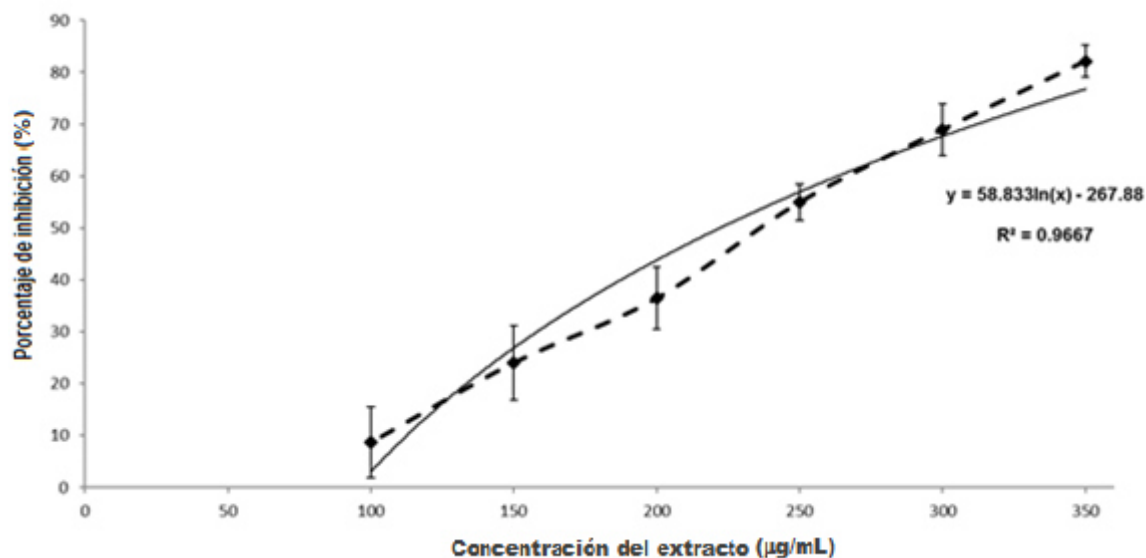
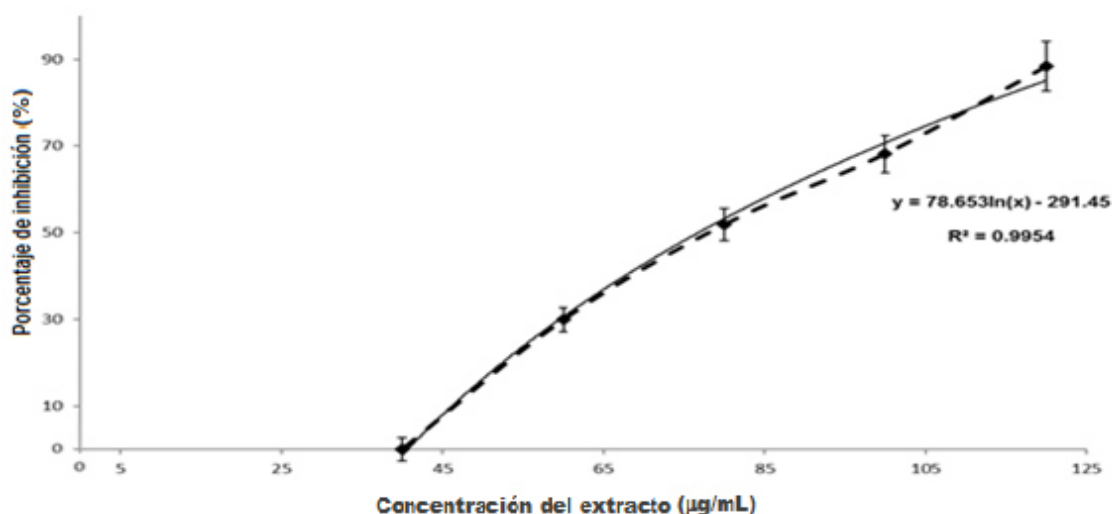
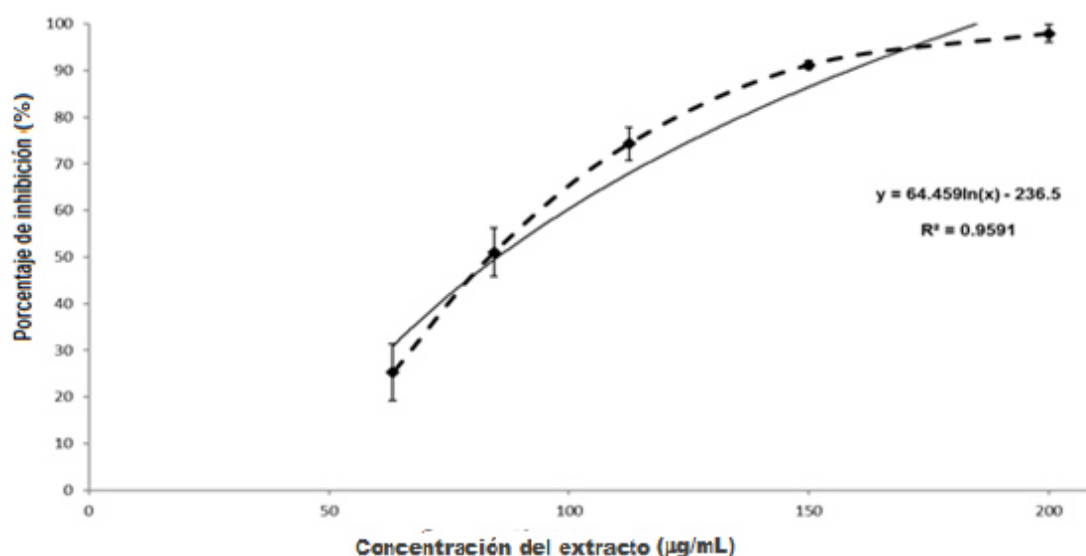


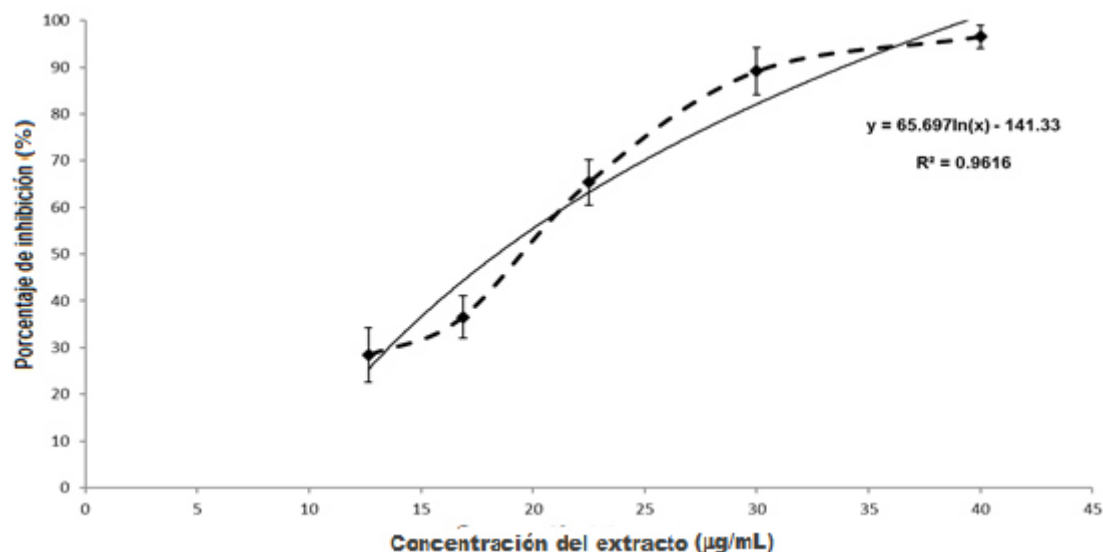
Figura 19. Curva de porcentaje de inhibición de 25  $\mu\text{L}$  de  $\alpha$ -glucosidasa (0.1 unidades/mL) incubada durante 15 min a 35 °C, por diferentes concentraciones ( $\mu\text{g/mL}$ ) del extracto acetato de etilo de la semilla de *C. imbricata* con 10 min de tiempo de reacción con 50  $\mu\text{L}$  PNGP (2 mM/mL) y detenido con 50 mL 0.2 M de  $\text{NaCO}_3$ . Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en experimentos por triplicado. Se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos (ANOVA, Tukey,  $P \leq 0.05$ ).



**Figura 20.** Curva de porcentaje de inhibición de 25 µL de α-glucosidasa (0.1 unidades/mL) incubada durante 15 min a 35 °C, por diferentes concentraciones (µg/mL) del extracto metanólico de la semilla de *O. engelmannii* con 10 min de tiempo de reacción con 50 µL PNGP (2 mM/mL) y detenido con 50 µL 0.2 M de NaCO<sub>3</sub>. Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en experimentos por triplicado. Se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos (ANOVA, Tukey,  $P \leq 0.05$ ).



**Figura 21.** Curva de porcentaje de inhibición de 25 µL de α-glucosidasa (0.1 unidades/mL) incubada durante 15 min a 35 °C, por diferentes concentraciones (µg/mL) del extracto acetato de etilo de la semilla de *T. cacao* con 10 min de tiempo de reacción con 50 µL PNGP (2 mM/mL) y detenido con 50 µL 0.2 M de NaCO<sub>3</sub>. Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en experimentos por triplicado. Se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos (ANOVA, Tukey,  $P \leq 0.05$ ).



**Figura 22.** Curva de porcentaje de inhibición de 25 µL de  $\alpha$ -glucosidasa (0.1 unidades/mL) incubada durante 15 min a 35 °C, por diferentes concentraciones (µg/mL) del extracto metanólico de la semilla de *T. cacao* con 10 min de tiempo de reacción con 50 µL PNGP (2 mM/mL) y detenido con 50 µL 0.2 M de NaCO<sub>3</sub>. Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en experimentos por triplicado. Se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos (ANOVA, Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

## 7.4 Ensayos *in vivo*

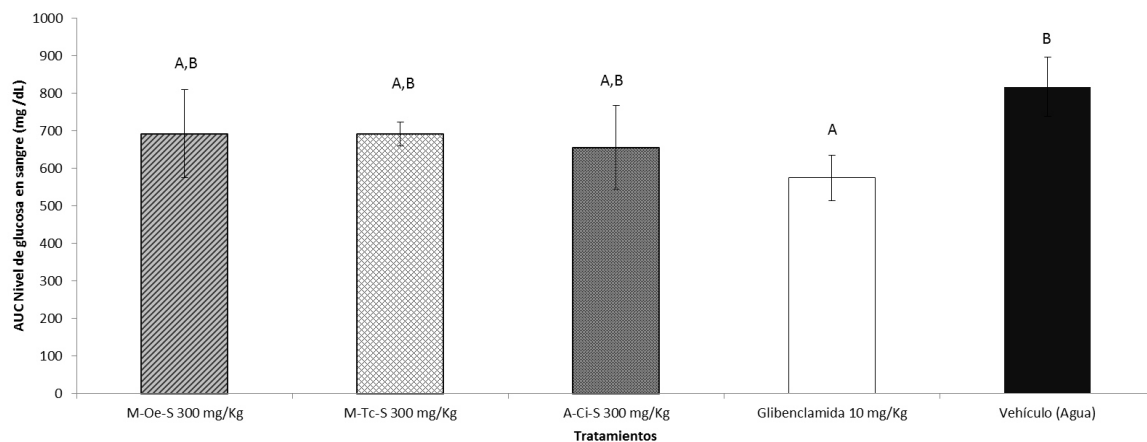
### 7.4.1 Toxicidad a corto plazo en ratones Balb/c

Los estudios de toxicidad aguda, siguiendo la metodología descrita anteriormente, revelaron que la administración de los extractos de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* a una dosis única de 250, 500 y 1000 mg/Kg, no mostraron letalidad ni reacciones adversas hasta el final del período de estudio, en ninguno de los cuatro ratones Balb/c tratados con dichos extractos al final de cada experimento realizado.

### 7.4.2 Estudio de hipoglucemia a corto plazo en ratones Balb/c normoglucémicos

La administración oral de 10 mg/Kg de glibenclamida a los ratones normoglucémicos, causó el efecto hipoglicémico de manera significativa reduciendo los niveles de glucosa en un 29.6% en comparación con el control negativo, mientras que la administración de los extractos a 300 mg/Kg de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* causaron la

reducción de los niveles de glucosa en un 15.3%, 19.7% y 15.3% respectivamente en el área bajo la curva, pero ninguno de los extractos probados causó una reducción igual o mayor que la administración de 10 mg/kg de glibenclamida. En la figura 23 se presentan los resultados obtenidos del área bajo la curva de dicho experimento.

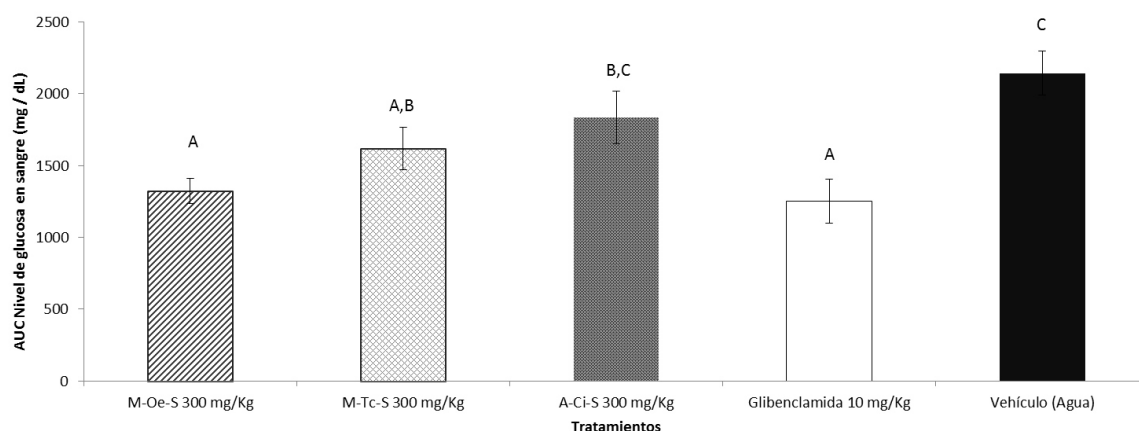


**Figura 23.** Área bajo la curva de los niveles de glucosa de los ratones Balb/C normoglucémicos con los diferentes tratamientos administrados con una dosis única. Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en los experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (ANOVA, TUKEY,  $p \leq 0.05$ ). Glibenclamida: Control positivo, Vehículo: Agua, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólico, Oe: *Opuntia engelmannii*, Ci: *Cylindropuntia imbricata*, TC: *Theobroma cacao*, S: semilla.

#### 7.4.3 Estudio de hipoglucemia a corto plazo en ratones Balb/c diabéticos inducidos por STZ

La administración oral de 10 mg/Kg de glibenclamida a los ratones diabéticos inducidos por STZ, causó el efecto hipoglicémico de manera significativa reduciendo los niveles de glucosa en un 41.5% en comparación con el control negativo en el área bajo la curva, mientras que la administración de los extractos a 300 mg/Kg de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* causó la reducción de los niveles de glucosa en un 14.4%, 38.2% y 24.4% respectivamente en el área bajo la curva. De los extractos probados, sólo el extracto de *O. engelmannii* presentó un efecto hipoglicémico similar a la glibenclamida,

por otro lado, el extracto de *T. cacao* mostró tener un buen efecto hipoglucémico pero menor que el de la glibenclamida. Sin embargo, el extracto con *C. imbricata* mostró tener menor efecto hipoglucémico, debido a que presenta una diferencia no significativa con el control negativo. En la figura 24 se presentan los resultados obtenidos del área bajo la curva de dicho experimento.

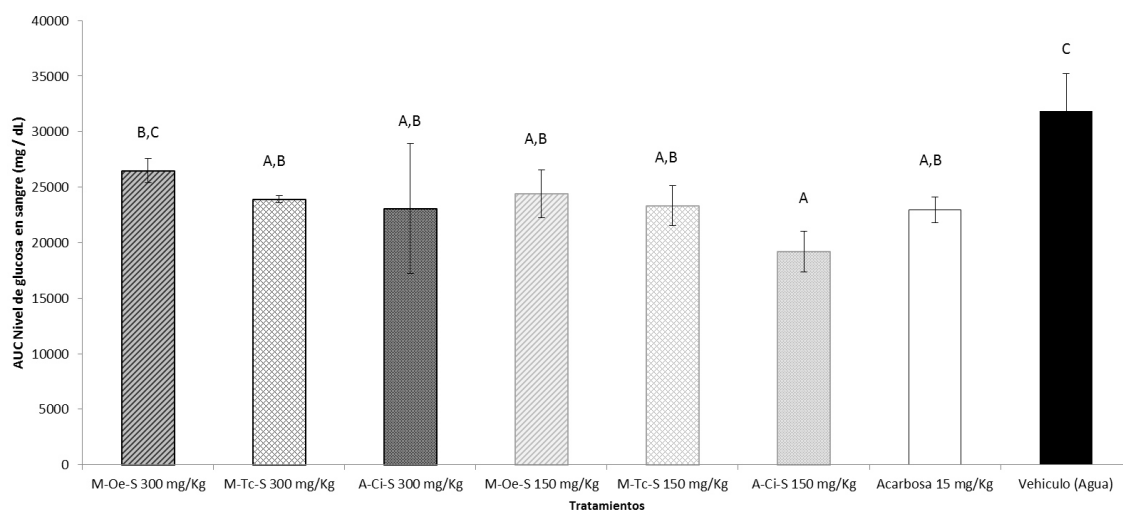


**Figura 24. Área bajo la curva de los niveles de glucosa de los ratones Balb/C diabéticos inducidos por STZ por los diferentes tratamientos administrados con una dosis única.** Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en los experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (ANOVA, TUKEY,  $p \leq 0.05$ ). Glibenclamida: Control positivo, Vehículo: Agua, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólicos, Oe: *O. engelmannii*; Ci, *C. imbricata*, TC: *T. cacao*, S: semilla.

#### 7.4.4 Prueba oral de tolerancia al almidón en ratones Balb/c normoglucémicos

La administración oral de 15 mg/Kg de acarbosa a los ratones normoglucémicos, causó el efecto antihyperglicemiante de manera significativa reduciendo el pico hyperglicémico de los niveles de glucosa, después de la administración de 3000 mg/kg de almidón en los ratones, en un 27.9% en comparación con el control negativo. De manera similar, la administración de los extractos a 300 mg/Kg de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* también causó la reducción de los niveles de glucosa después de que los ratones se les administrara 3000 mg/kg de almidón en un 27.5%, 24.8% y 16.8% respectivamente en el

área bajo la curva, incluso siguiendo con este patrón, la administración de los extractos a 150 mg/Kg de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* siguió causando reducción de los niveles de glucosa después de que los ratones se les administrara de 3000 mg/kg de almidón en un 39.7%, 26.7% y 23.35% respectivamente en el área bajo la curva. En la figura 25 se presentan los resultados obtenidos de dicho experimento.

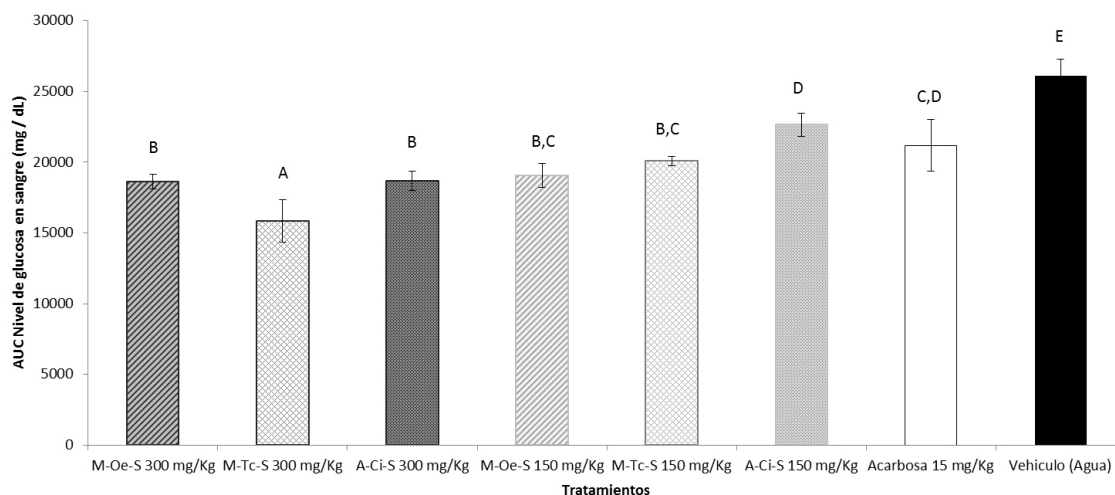


**Figura 25.** Área bajo la curva de los niveles de glucosa de los ratones Balb/C normoglucémicos tratados por los diferentes tratamientos los cuales fueron administrados previamente y después se les administro 3000 mg/kg de almidón. Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en los experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (ANOVA, TUKEY,  $p \leq 0.05$ ). Acarbosa: Control positivo, Vehículo: Agua, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólicos, Oe: *O. engelmannii*, Ci: *C. imbricata*, TC: *T. cacao*, S: semilla.

#### 7.4.5 Prueba oral de tolerancia a la sacarosa en ratones Balb/c normoglucémicos

La administración oral de 15 mg/Kg de acarbosa a los ratones normoglucémicos, causó el efecto antihiperglicemiante de manera significativa reduciendo el pico hiperglicémico de los niveles de glucosa, después de la administración de 3000 mg/Kg de sacarosa, en un 18.8% en comparación con el control negativo en el área bajo la curva. De manera similar, la administración de los extractos a 300 mg/Kg de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* también causó la reducción de los niveles de glucosa después de que los ratones se les administraran 3000 mg/kg de sacarosa en un 28.4%, 39.2% y 28.8%

respectivamente en el área bajo la curva, incluso siguiendo con este patrón, la administración de los extractos a 150 mg/Kg de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* siguió causando reducción de los niveles de glucosa después de que los ratones de los administrara de 3000 mg/kg de sacarosa en un 13.2%, 23.0% y 27.9% respectivamente en el área bajo la curva. En la figura 26 se presentan los resultados obtenidos del área bajo la curva dicho experimento.



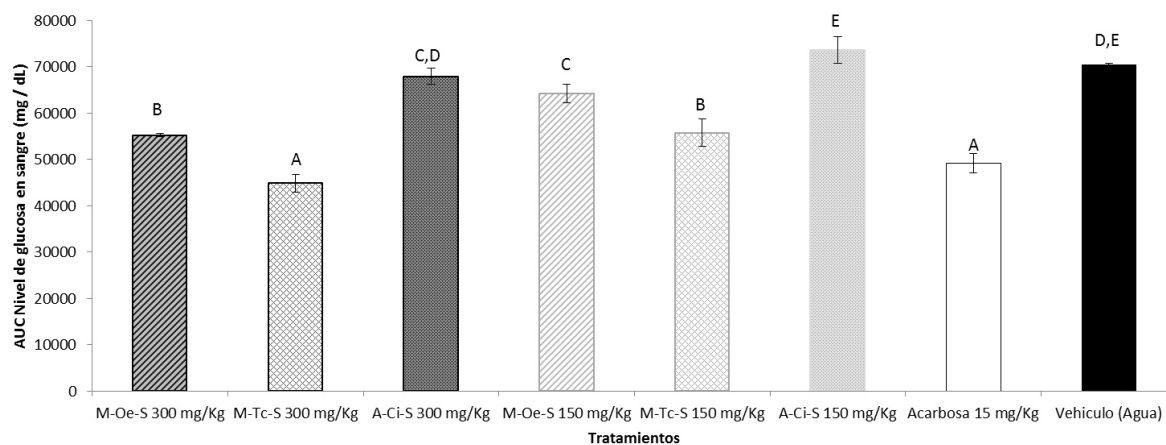
**Figura 26. Área bajo la curva de los niveles de glucosa de los ratones Balb/C normoglucémicos tratados por los diferentes tratamientos los cuales fueron administrados previamente y después se les administro 3000 mg/kg de sacarosa.** Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en los experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (ANOVA, TUKEY,  $p \leq 0.05$ ). Acarbosa: Control positivo, Vehículo: Agua, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólico, Oe: *O engelmannii*, Ci: *C imbricata*, TC: *T, cacao*; S: semilla.

#### 7.4.6 Prueba oral de tolerancia al almidón en ratones Balb/c diabéticos inducidos por STZ

La administración oral de 15 mg/Kg de acarbosa a los ratones diabéticos inducidos por STZ, causó un efecto antihiperглиcemante de manera significativa reduciendo el pico hiperглиcémico de los niveles de glucosa después de la administración de 3000 mg/kg de almidón en un 30.2% en comparación con el control negativo en el área bajo la curva. De manera similar, la administración de los extractos a 300 mg/Kg de *T. cacao* y *O. engelmannii* también causó la reducción de los niveles de glucosa después de que los



ratones se les administrara 3000 mg/Kg de almidón en un 36.3% y 21.6% respectivamente en el área bajo la curva, incluso la administración de los extractos a 150 mg/Kg de *T. cacao* y *O. engelmannii* siguió causando reducción de los niveles de glucosa después de que los ratones se les administrara de 3000 mg/kg de almidón en un 20.9% y 8.8% respectivamente en el área bajo la curva. En la figura 27 se presentan los resultados obtenidos del área bajo la curva dicho experimento.

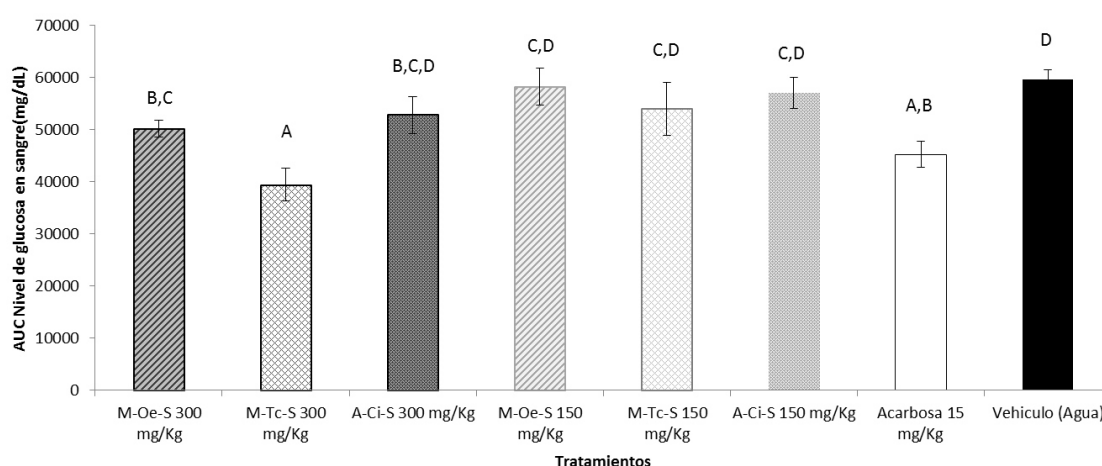


**Figura 27. Área bajo la curva de los niveles de glucosa de los ratones Balb/C diabéticos inducidos por STZ por los diferentes tratamientos los cuales fueron administrados previamente y después se les administro 3000 mg/kg de Almidón.** Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en los experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (ANOVA, TUKEY,  $p \leq 0.05$ ). Acarbosa: Control positivo, Vehículo: Agua, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólico, Oe: *O. engelmannii*, Ci: *C. imbricata*, TC: *T. cacao*, S: semilla.

#### 7.4.7 Prueba oral de tolerancia a la sacarosa en ratones Balb/c diabéticos inducidos por STZ

La administración oral de 15 mg/Kg de acarbosa a los ratones diabéticos inducidos por STZ, causó un efecto antihiperглиcemiente de manera significativa reduciendo el pico hiperглиcémico de los niveles de glucosa después de la administración de 3000 mg/kg de sacarosa en un 24.4% en comparación con el control negativo en el área bajo la curva. De manera similar, la administración de los extractos a 300 mg/Kg de *T. cacao* y *O. engelmannii* también causó la reducción de los niveles de glucosa después de que los

ratones se les administrara 3000 mg/Kg de sacarosa en un 15.82% y 33.87% respectivamente en el área bajo la curva en comparación con el control negativo. Sin embargo, la administración de los extractos a 150 mg/Kg de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* no causó una reducción de los niveles de glucosa de manera significativa después de que los ratones se les administraran 3000 mg/Kg de sacarosa en el área bajo la curva en comparación con el control negativo. En la figura 28 se presentan los resultados obtenidos del área bajo la curva dicho experimento.

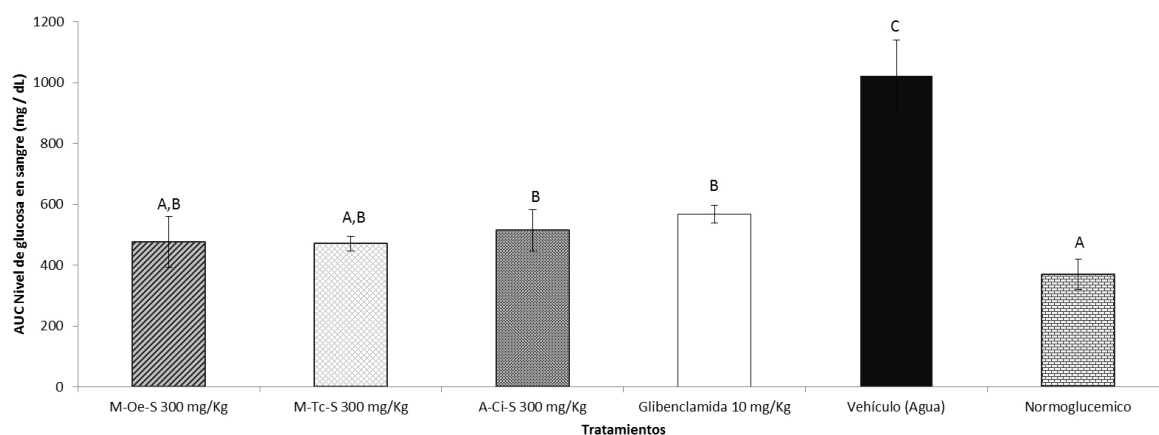


**Figura 28.** Área bajo la curva de los niveles de glucosa de los ratones Balb/C diabéticos inducidos por STZ por los diferentes tratamientos los cuales fueron administrados previamente y después se les administro 3000 mg/kg de sacarosa. Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en los experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (ANOVA, TUKEY,  $p \leq 0.05$ ). Acarbosa: Control positivo, Vehículo: Agua, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólico, Oe: *O. engelmannii*, Ci: *C. imbricata*, TC: *T. cacao*, S: semilla.

#### 7.4.8 Efecto hipoglucémico de largo plazo en ratones Balb/c diabéticos inducidos por STZ tratados por los diferentes tratamientos por 4 semanas

La administración oral diaria, por 4 semanas, de 10 mg/Kg de glibenclamida a los ratones diabéticos inducidos por STZ, causó un efecto hipoglucémico de manera significativa reduciendo los niveles de glucosa en un 44.5% en comparación con el

control negativo en el área bajo la curva. De manera similar, la administración de los extractos a 300 mg/Kg de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* causó la reducción de los niveles de glucosa en un 49.7%, 54.0% y 53.5% respectivamente en el área bajo la curva, teniendo un efecto hipoglicémico similar a la glibenclamida, pero sin llegar a los niveles de glucosa de los ratones normoglucémicos, es decir niveles de glucosa normales. En la figura 29 se presentan los resultados obtenidos del área bajo la curva dicho experimento.

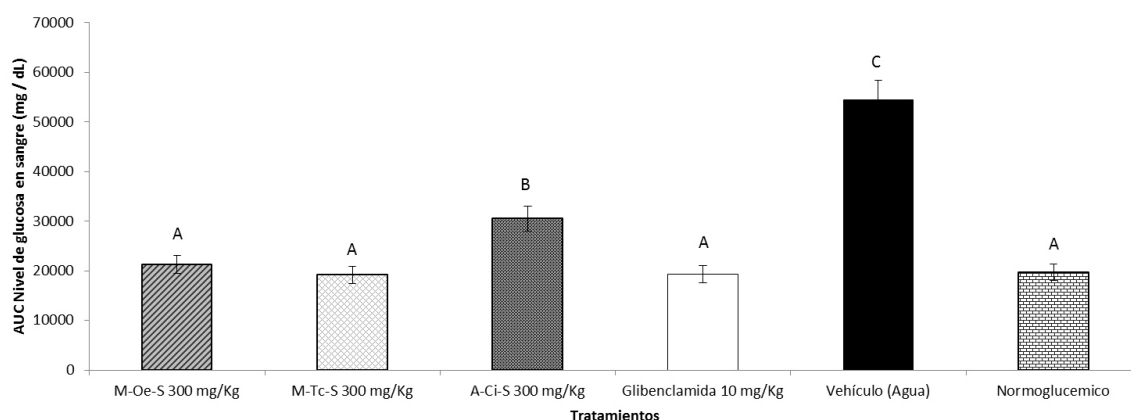


**Figura 29.** Área bajo la curva de los niveles de glucosa de los ratones Balb/C diabéticos inducidos por STZ por los diferentes tratamientos administrados diariamente por 4 semanas. Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en los experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (ANOVA, TUKEY,  $p \leq 0.05$ ). Glibenclamida: Control positivo, Vehículo: Agua, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólico, Oe: *O. engelmannii*; Ci, *C. imbricata*, TC: *T. cacao*. S: semilla.

#### 7.4.9 Prueba oral de tolerancia a la glucosa en ratones Balb/c diabéticos inducidos por STZ tratados por los diferentes tratamientos por 4 semanas

La administración oral diaria, por 4 semanas, de 10 mg/Kg de glibenclamida a los ratones diabéticos inducidos por STZ, causó un efecto antihiperглиcémico de manera significativa reduciendo los niveles de glucosa en un 64.52% en comparación con el control negativo después de la administración de 2000 mg/Kg de glucosa en el área bajo la curva. De manera similar, la administración de los extractos a 300 mg/Kg de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* causó la reducción de los niveles de glucosa en un

43.9%, 64.9% y 60.9% respectivamente en el área bajo la curva, teniendo un efecto hipoglucémico similar a la glibenclamida, la cual mostró tener un efecto similar a los ratones normoglucémicos que se les administró 2000 mg/Kg de glucosa. En la figura 30 se presentan los resultados obtenidos del área bajo la curva dicho experimento.

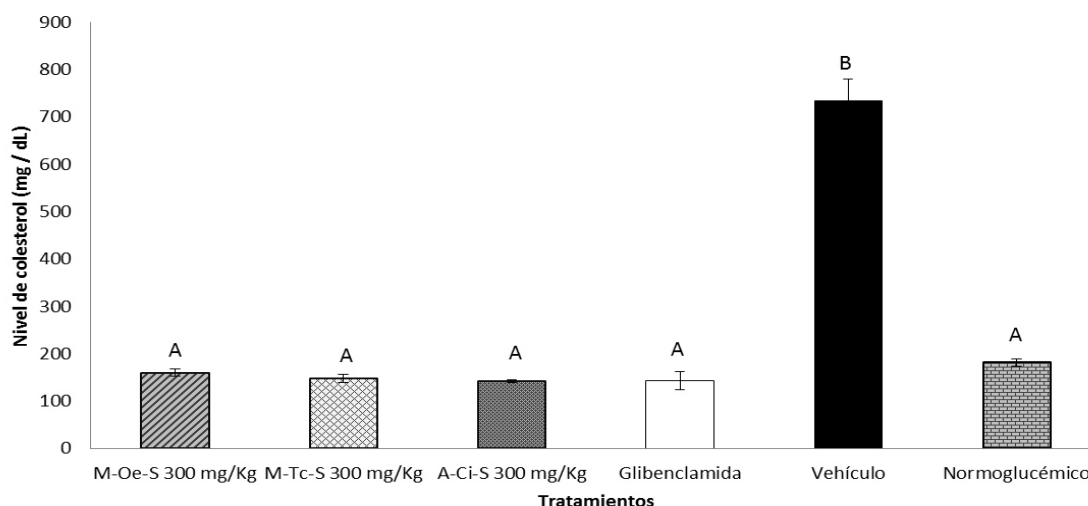


**Figura 30. Área bajo la curva de los niveles de glucosa de los ratones Balb/C diabéticos inducidos por STZ por los diferentes tratamientos administrados diariamente por 4 semanas; los diferentes tratamientos fueron administrados previamente y después se les administro 2000 mg/kg de sacarosa.** Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en los experimentos por triplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (ANOVA, TUKEY,  $p \leq 0.05$ ). Glibenclamida: Control positivo, Vehículo: Agua, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólicos, Oe: *O. engelmannii*, Ci: *C. imbricata*, TC: *T. cacao*, S: semilla.

#### 7.4.10 Efecto de largo plazo en los niveles de colesterol y triglicéridos en ratones diabéticos inducidos por STZ tratados por los diferentes tratamientos por 4 semanas

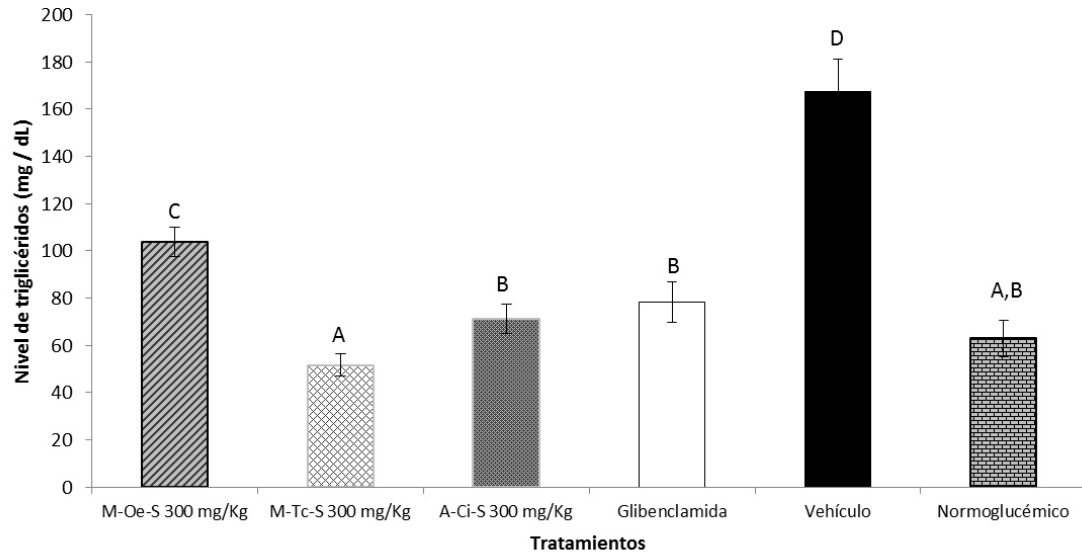
La administración oral diaria, por 4 semanas, de 10 mg/Kg de glibenclamida a los ratones diabéticos inducidos por STZ, causó el efecto antihipercolesterolémico de manera significativa reduciendo los niveles de colesterol en un 411.3% en comparación con el control negativo (vehículo), además la administración de los extractos a 300 mg/Kg de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* causó la reducción de los niveles de colesterol en un 416.4%, 396.0% y 358.3% en comparación con el control negativo (vehículo), teniendo un efecto hipoglucémico similar a la glibenclamida. Lo que corresponde a una reducción del nivel de colesterol del 80.4% para la glibenclamida,

80.6% para *C. imbricata*, 79.8% para *T. cacao* y 78.2% para *O. engelmannii*. En la figura 31 se presentan los resultados obtenidos de dicho experimento.



**Figura 31. Nivel de colesterol de los ratones Balb/C diabéticos inducidos por STZ por los diferentes tratamientos administrados en una dosis diaria por 4 semanas.** Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en los experimentos por cuadruplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (ANOVA, TUKEY,  $p \leq 0.05$ ). Glibenclamida: Control positivo, Vehículo: Agua, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólicos, Oe: *O. engelmannii*, Ci: *C. imbricata*, TC: *T. cacao*, S: semilla.

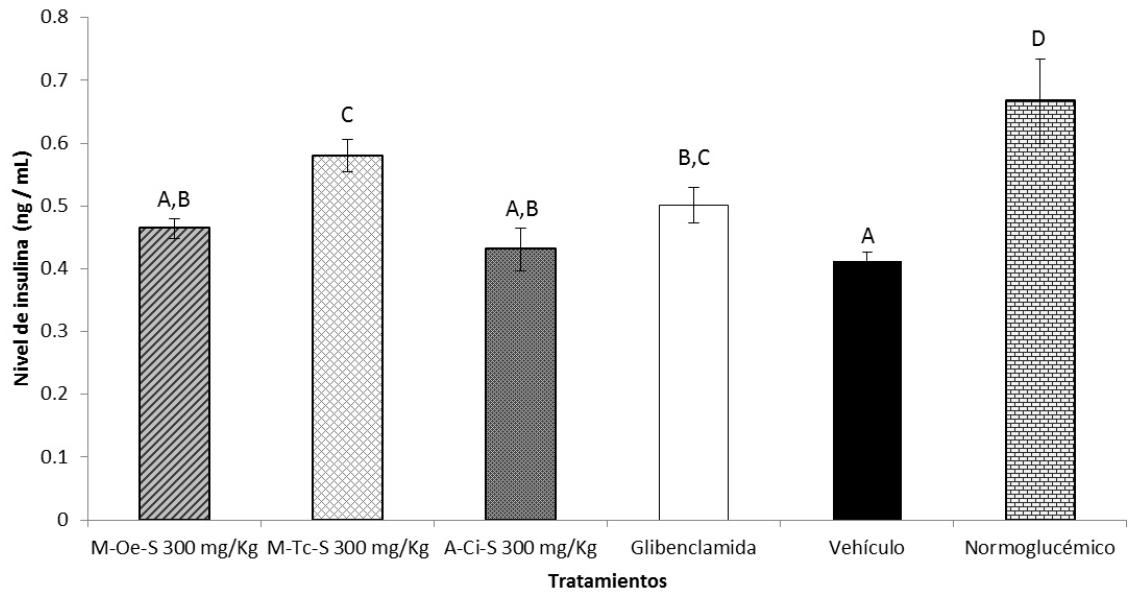
La administración oral diaria, por 4 semanas, de 10 mg/Kg de glibenclamida a los ratones diabéticos inducidos por STZ, causó un efecto hipertrigliceridémico de manera significativa reduciendo los niveles de triglicéridos en un 113.7% en comparación con el control negativo (vehículo), además la administración de los extractos a 300 mg/Kg de *C. imbricata* y *T. cacao* causó la reducción de los niveles de triglicéridos en un 135.1% y 224.0% en comparación con el control negativo (vehículo), teniendo un efecto hipoglicémico similar a la glibenclamida. Por otro lado, los extractos de *C. imbricata* y *T. cacao*, redujo los triglicéridos a nivel menor que la glibenclamida. Lo que corresponde a una reducción del nivel de triglicéridos del 53.2% para la glibenclamida, 57.5% para *C. imbricata*, 69.1% para *T. cacao* y 38.1% para *O. engelmannii*. En la figura 32 se presentan los resultados obtenidos de dicho experimento.



**Figura 32. Niveles de Triglicéridos de los ratones Balb/C diabéticos inducidos por STZ con los diferentes tratamientos administrados una dosis diaria durante 4 semanas.** Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en los experimentos por cuadruplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (ANOVA, TUKEY,  $p \leq 0.05$ ). Glibenclamida: Control positivo, Vehículo: Agua, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólicos, Oe: *O. engelmannii*, Ci: *C. imbricata*, TC: *T. cacao*, S: semilla.

#### 7.4.11 Efecto de largo plazo en el nivel de insulina en ratones diabéticos inducidos por STZ tratados por los diferentes tratamientos por 4 semanas

La administración oral diaria, por 4 semanas, de 10 mg/Kg de glibenclamida a los ratones diabéticos inducidos por STZ, causó un efecto insulínico ya que aumentó los niveles de insulina significativamente en un 21.84% en comparación con el control negativo, además la administración del extracto a 300 mg/Kg de *T.cacao* causó el aumento de los niveles de insulina en un 40.90%, teniendo un mejor efecto a la glibenclamida, mientras que los extractos de *C. imbricata* y *O.engelmannii* no aumentaron los niveles de insulina en forma significativa. En la figura 32 se presentan los resultados obtenidos de dicho experimento.



**Figura 33. Nivel de insulina de los ratones Balb/C diabéticos inducidos por STZ con los diferentes tratamientos administrados una dosis diaria durante 4 semanas.** Promedios y desviación estándar de los valores de los tratamientos en los experimentos por cuadruplicado. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (ANOVA, TUKEY,  $p \leq 0.05$ ). Glibenclamida: Control positivo, Vehículo: Agua, A: extracto acetato de etilo, M: extracto metanólicos, Oe: *O. engelmannii*, Ci: *C. imbricata*, TC: *T. cacao*, S: semilla.

## 8. DISCUSIÓN

En el tamizaje fitoquímico el extracto metanólico de la penca de *C. imbricata* hay una gran diversidad de grupos de moléculas donde están presentes los flavonoides, los cuales son un sub grupo de fenoles. Lee *et al.*, (2002) encontró que los extractos etanólicos de la penca de *Opuntia ficus-indica* var. *Saboten* tenían una alta cantidad de fenoles y atribuyó que la actividad antioxidante se debía a la presencia de flavonoides en el extracto de *O. ficus-indica*. Considerando la penca de *C. imbricata*, que posee el mismo género, la misma parte y es un extracto muy similar a *O. ficus-indica* podría presentar características similares en la presencia de flavonoides. Cabe destacar que los extractos de acetato de etilo de las semillas de *C. imbricata* y *O. engelmannii* y el extracto metanólico de la semilla de *O. engelmannii* mostraron que tienen presentes los flavonoides en las pruebas fitoquímicas, así mismo, mostraron actividad anti oxidante, sin embargo los extractos de la penca de *O. engelmannii* no mostraron tener el efecto inhibitorio del DPPH.

Además, estos mismos extractos mostraron tener presentes los carbohidratos e insaturaciones donde el género de opuntia ha mostrado tener actividad inhibitoria contra el DPPH. En el estudio de Qiu *et al.*, (2002) se observó actividad antioxidante en los extractos metanólicos de la penca de *Opuntia dillenii*. Las moléculas presentes para detectar dicha actividad son del tipo glucósidos, las cuales tienen en sus constituyentes los grupos carbohidratos e insaturaciones. Los extractos polares de las semillas estudiadas presentaron actividad antioxidante, debido a la presencia de los componentes similares a los encontrados en el estudio anterior, bajo esta premisa, se podría suponer que existe una posibilidad de presencia de moléculas similares con propiedades antioxidantes en los extractos aún si difieren las partes utilizadas bajo estudio, es decir, semillas y pencas.

Por otro lado, a medida en que se va incrementando la polaridad en los extractos extraídos de *I. sonora*, se observó que una mayor cantidad de grupos de moléculas eran extraídos y se observó que los extractos polares eran los que presentaban la actividad antioxidante. Dicha actividad fue mayor en el extracto de acetato de etilo, en el extracto



metanólico esta fue En base a los resultados obtenidos, se considera que las saponinas o los glucósidos extraídos son los responsables de la toxicidad del extracto metanólico, ya que estas moléculas no se encontraron presentes en el extracto de acetato de etilo.

Del mismo modo, los extractos de acetato de etilo y metanólico de *T. cacao* mostraron la actividad de inhibir el DPPH, esta fue mayor en el extracto metanólico. Hatano *et al.*, (2002) analizó que el licor de cacao posee moléculas con grupos de polifenoles, los cuales poseían la propiedad de inhibir el DPPH. En base a lo anterior, se estima que este tipo de moléculas están presentes en la semilla de *T. cacao*, no fermentado, similar a los resultados obtenidos de los licores de cacao con presencia de grupos polifenólicos en los extractos de acetato de etilo y metanólicos.

Por otro lado, los extractos de acetato de etilo y metanólico de la semilla de *T. cacao* presentaron efecto de inhibir la  $\alpha$ -glucosidasa demostrando que en los extractos polares existen moléculas con efecto antihiperglicemiante. En el estudio de Yamashita *et al.*, (2012) se probó que el licor de *T. cacao* contenía moléculas responsables del efecto inhibitorio de la  $\alpha$ -glucosidasa, estas moléculas eran del tipo procianidinas. En base a los resultados obtenidos en el estudio anterior con el Licor, y en la semilla de *T. cacao* sin fermentar, en los extractos más polares (Acetato de etilo y metanólicos) mostraron grupos funcionales que forman las procianidinas.

Del mismo modo, los extractos de acetato de etilo de las semillas de *O. engelmanni* y *C. imbricata*, así como el extracto metanólico de la semilla de *O. engelmanni* mostraron un efecto inhibitorio de la  $\alpha$ -glucosidasa, estos revelaron la presencia de flavonoides, los cuales podrían tener una acción terapéutica, como en este caso el de inhibir la  $\alpha$ -glucosidasa, y el DPPH. Se ha estudiado a los flavonoides como posibles estructuras con efectos terapéuticos (Di Carlo *et al.*, 2012). Por el contrario, el extracto hexánico de la penca de *C. imbricata* sí presentó actividad inhibitoria contra la  $\alpha$ -glucosidasa, pero no mostró tener flavonoides en las pruebas fitoquímicas, y es un extracto apolar, por lo que se le atribuiría su efecto a otro tipo de moléculas distintas a los demás extractos.

En los resultados obtenidos acerca de la viabilidad celular de las plantas estudiadas, se puede observar que 22 de los 24 extractos no presentaron toxicidad significativa a 200  $\mu\text{g/mL}$  y los otros 2 el extracto de acetato de etilo de la semilla de *C. imbricata* y

metanólico de *I. sonora* presentaron una toxicidad baja de 13.01% y alta de 94.47% respectivamente.

Los extractos de acetato de etilo de *C. imbricata* y *O. engelmannii* mostraron una inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa de 222  $\mu\text{g/mL}$  y 373  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente y ambos presentaron actividad antioxidante con una  $\text{IC}_{50}$  de 45  $\mu\text{g/mL}$  y 18  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente. Lo que significa que al menos el extracto de acetato de etilo de la semilla de *C. imbricata* es seguro y efectivo a esta concentración como un inhibidor de la  $\alpha$ -glucosidasa. Debido a que este extracto fue probado 200  $\mu\text{g/mL}$  y presentó una toxicidad *in vitro* en las células B16F10 del 13.01%, lo cual es un nivel bajo, con una  $\text{IC}_{50}$  de 222  $\mu\text{g/mL}$ , como inhibidor de la  $\alpha$ -glucosidasa; con una  $\text{CI}_{50}$  de 43  $\mu\text{g/mL}$  como inhibidor del DPPH, actuando éste extracto con actividad dual como un inhibidor de la  $\alpha$ -glucosidasa y DPPH y con baja toxicidad.

Por otro lado, el extracto de acetato de etilo de la semilla de *O. engelmannii*, presentó baja toxicidad y mostró actividad antioxidante a una dosis segura, con una  $\text{IC}_{50}$  de 43  $\mu\text{g/mL}$  como inhibidor del DPPH; sin embargo el extracto metanólico de la misma planta mostró una  $\text{IC}_{50}$  de 77  $\mu\text{g/mL}$  como inhibidor de la  $\alpha$ -glucosidasa y una  $\text{IC}_{50}$  de 16  $\mu\text{g/mL}$  como inhibidor del DPPH, con esto el extracto metanólico es más prometedor para futuras investigaciones *in vivo*. Además, el extracto metanólico de la raíz de *I. sonora* no mostró, inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa, a 200  $\mu\text{g/mL}$  y como inhibidor del DPPH presento una  $\text{IC}_{50}$  de 182  $\mu\text{g/mL}$ . Sin embargo, este extracto presentó una  $\text{DL}_{50}$  de 77  $\mu\text{g/mL}$  ubicándolo como muy tóxico. En cambio, el extracto de acetato de etilo de la raíz *I. sonora* mostró tener un  $\text{IC}_{50}$  de 51  $\mu\text{g/mL}$  como inhibidor del DPPH pero no mostró ninguna actividad contra la  $\alpha$ -glucosidasa, no tóxico con una actividad relevante como antioxidante.

Finalmente, el extracto hexánico de la penca de *C. imbricata*, el extracto metanólico de *O. engelmannii* y los extractos de acetato de etilo y metanólicos de *T. cacao* mostraron actividad de ser inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa y tener sus  $\text{IC}_{50}$  a concentraciones menores de 200  $\mu\text{g/mL}$  no son tóxico, mientras que el resto de los 18 extractos mostraron ser seguros a 200  $\mu\text{g/mL}$  no mostraron tener actividad contra la  $\alpha$ -glucosidasa. En lo que concierne de su actividad antioxidante, 7 de los 24 extractos

mostraron tener un  $IC_{50}$  de inhibición del DPPH a concentraciones menores de 200  $\mu\text{g/mL}$ ; de los cuales 6 mostraron tener su  $IC_{50}$  de inhibición del DPPH a concentraciones que no fueron tóxicas en las células B16F10 exceptuando al extracto de la raíz de *I. sonora*.

Bayar et al., (2016) evaluaron la actividad antioxidante de tres polisacáridos extraídos de los cladodios de *Opuntia ficus indica* los cuales mostraron ser agentes inhibidores del DPPH y por lo tanto tener propiedades antioxidantes siguiendo el patrón del género *Opuntia*. Mientras que los extractos de acetato de etilo y metanólico de la semilla de *C. imbricata* y de la semilla de *O. engelmannii* mostraron tener actividad antioxidante al inhibir el DPPH y los extractos de las pencas de ambas especies no mostraron tener dicho efecto.

Por otro lado, Hatano et al., (2002) probaron que de las fracciones polares purificadas de extractos de licor de *T. cacao*, que eran glucósidos “Proanthocyanidin” y compuestos fenólicos relacionados, 11 de esos 17 compuestos mostraron tener actividad antioxidante al inhibir el DPPH. Debido a que el extracto metanólico de *T. cacao* mostró tener dicha actividad, podría ser que se encuentren este mismo tipo de moléculas, sin embargo, el extracto estudiado se obtuvo por extracción continua de la semilla de *T. cacao* sin procesar a diferencia del licor. Cabe destacar que en las pruebas fitoquímicas, este extracto mostró presencia de moléculas de la familia de los flavonoides, mientras que en los extractos no polares no mostró tener actividad inhibitoria del DPPH, este tipo de moléculas solo están presentes en el extracto más polar de la semilla de *T. cacao*, confirmando así que son moléculas polares las que presentan el efecto inhibitorio del DPPH.

Finalmente, el extracto de acetato de etilo de la raíz de *I. sonora* demostró tener capacidad antioxidante con un  $IC_{50}$  de inhibición del DPPH menor a la concentración no tóxica probada en las células B16F10. Por lo que, este extracto mostró ser seguro *in vitro* a diferencia del extracto metanólico de la raíz de *I. sonora*, que mostró tener actividad antioxidante, pero a concentraciones que fueron tóxicas en las células B16F10. Además, se probó que en este extracto hay moléculas con capacidad antioxidante en las fracciones polares, sin embargo, no se encontraron estudios que muestren que la planta tenga esta

capacidad de ser inhibidor del DPPH por lo que este estudio muestra que la planta tiene potencial como un agente antioxidante.

Respecto a la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa, los extractos de acetato de etilo y metanólicos de las pencas de *O. engelmannii* y *C. imbricata* no mostraron esta actividad similar a los resultados obtenidos por Becerra-Jiménez *et al.* (2012), los cuales mostraron que los extractos acuosos de *Opuntia streptacantha* Lem no presentaron una actividad relevante inhibitoria de la  $\alpha$ -glucosidasa. En este estudio además evaluamos el extracto hexánico de la penca de *C. imbricata* reveló un efecto inhibitorio de la  $\alpha$ -glucosidasa estadísticamente significativo. Comparado con la acarbosa, control positivo, a 200  $\mu\text{g/mL}$  con una  $\text{IC}_{50}$  de 56  $\mu\text{g/mL}$ , siendo mucho menor al de la acarbosa y no fue tóxico sobre las células B16F10.

Por otro lado, Ennouri *et al.*, (2006) realizaron un estudio *in vivo* con la semilla *Opuntia ficus indica* en ratas Wistar, la cual tuvo un efecto reductor de la glucosa sérica en las ratas. La semilla fue administrada en una dieta continua por 63 días, mostrando que no es toxica. Similar a este resultado, en el experimento *in vitro* se encontró que el extracto de la semilla de acetato de etilo de *C. imbricata* y el extracto metanólico de la semilla de *O. engelmannii* mostraron tener un efecto antidiabético, al inhibir la  $\alpha$ -glucosidasa con un  $\text{IC}_{50}$  de 222  $\mu\text{g/mL}$  y 77  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente y no ser tóxicos en la línea celular evaluada. Estos extractos poseían el efecto reductor de la glucosa y no sólo prevenir la elevación postprandial de la glucosa, suponiendo que los resultados obtenidos con *Opuntia ficus indica* serían similares a los resultados obtenidos con el mismo género y parte de planta, obteniendo resultados similares. Cabe mencionar que una de las diferencia entre los estudios de Ennouri *et al.*, (2006) y los llevados a cabo en esta investigación, fue que no se administró la semilla completa, sólo los extractos que mostraron el mejor potencial antidiabético *in vitro*.

Adicionalmente, en los estudios *in vitro* se encontró que los extractos de acetato de etilo y metanólico de la semilla de *T. cacao* poseían la propiedad de inhibir la  $\alpha$ -glucosidasa con más efectividad que la acarbosa, presentando una  $\text{IC}_{50}$  de 85  $\mu\text{g/mL}$  y 20  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente. El extracto metanólico de la semilla de *T. cacao* mostró resultados relevantes en la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa de los extractos probados,

adicionalmente, este extracto mostró tener una actividad antioxidante similar a vitamina E (control positivo), mostrando así tener una actividad dual en las pruebas *in vitro*, y no presentó toxicidad sobre las células B16F10 continuando la investigación en las pruebas *in vivo*. A diferencia de los resultados obtenidos por de Oliveira *et al.*, (2015), con autolizados de cacao, se encontró que el extracto de acetato de etilo y el metanólico poseían la propiedad de inhibir la  $\alpha$ -glucosidasa, esto se le atribuye a la forma de extracción, ya que no se removió ningún componente de la planta, teniendo un resultado más similar al estudio de Bellesia *et al.* (2014) con el brebaje de cacao.

Se continuó la investigación un modelo *in vivo* con ratones Balb/c diabéticos solamente con los extractos de mayor actividad *in vitro* los cuales son los extractos de las semillas de semillas *C. imbricata*, *O. engelmannii* y *T. cacao*. Se indujo la diabetes con estreptozotocina, esta sustancia causa la muerte de las células betas pancreáticas por alquilación del ADN, es una toxina que está implicada en la fragmentación de ADN, así como otros efectos deletéreos por medio de la producción de especies reactivas de oxígeno (Montilla et al., 2004). En base a la revisión de la literatura y la experimentación en pruebas piloto, se encontró que la dosis óptima de estreptozotocina era 200 mg/kg de peso corporal, disuelta en buffer de citratos a 0.1 M (pH = 4.5).

Para evaluar la toxicidad aguda en el modelo animal se administró una dosis única a los grupos de ratones sin previo tratamiento de 250, 500 y 1000 mg/kg. No se observó mortalidad ni cambios en su comportamiento después de administrar las dosis, por lo tanto, no presentaron toxicidad y eran seguros para este experimento.

De acuerdo a Etxeberria *et al.*, (2012), las enzimas digestivas más importantes son: 1) la  $\alpha$ -amilasa, la cual cataliza la hidrólisis de los enlaces alfa-1,4 glicosídicos de almidón, amilosa, amilopectina, glucógeno y diversas maltodextrinas y es responsable de la mayor parte de la digestión del almidón en seres humanos y, 2) la  $\alpha$ -glucosidasa que cataliza el paso final del proceso digestivo de los carbohidratos que actúan sobre los enlaces 1,4-alfa y dando como resultado la glucosa. Por lo tanto, la inhibición de la  $\alpha$ -amilasa y la  $\alpha$ -glucosidasa, puede disminuir significativamente el aumento postprandial de la glucosa en sangre después de una dieta mixta de carbohidratos y puede ser una

estrategia importante en el manejo del nivel de glucosa en sangre postprandial en pacientes diabéticos de tipo 2 (Subramanian *et al.*, 2008). Para efectos prácticos, la prueba de la tolerancia oral a la sacarosa se relaciona más con la inhibición *in vivo* de la  $\alpha$ -glucosidasa y la prueba de tolerancia al almidón se relaciona más con la inhibición *in vivo* de la  $\alpha$ -amilasa.

Con la finalidad de evaluar el efecto antihiperглиcemiante *in vivo* se realizó la prueba de la tolerancia oral a la sacarosa en los ratones y se observó que el efecto antihiperглиcémico de los tratamientos en general fue mayor en los ratones normoglicémicos más que en los ratones diabéticos inducidos por la estreptozotocina. Una de las razones por las que se obtuvo el resultado anterior, podría ser debido a que los ratones normoglicémicos no presentan daños en el mecanismo de la liberación de insulina. Por otro lado, se observó que a mayor dosis existe un mayor efecto anti hiperглиcemiante de los tratamientos; los extractos de *O. engelmannii* y *T. cacao* mostraron efecto, similar al de la acarbosa y el extracto de *C. imbricata* fue menor que al de la acarbosa. Por lo que con estos resultados se confirma el efecto *in vivo* de la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa por parte de los dos primeros extractos, confirmando los resultados obtenidos *in vitro*, y para el extracto de acetato de etilo de *C. imbricata* se confirmó que no mostró tener efecto antihiperглиcemiante *in vivo* como en las pruebas *in vitro*.

Para evaluar el efecto antihiperглиcemiante *in vivo* se realizó la prueba de la tolerancia oral al almidón y se observó que el efecto antihiperглиcémico de los tratamientos en general fue mayor en los ratones normoglicémicos que en los ratones diabéticos inducidos por la estreptozotocina. La causa podría ser similar a la prueba anterior y se observó que a mayor dosis, mayor el efecto anti hiperглиcemiante de los tratamientos. El extracto de *T. cacao* mostró mayor efecto, similar a la acarbosa, mientras que el extracto de *O. engelmannii* fue menor, pero significativo. Por otro lado, a diferencia de la prueba anterior no se puede asegurar que los extractos estén inhibiendo la  $\alpha$ -amilasa, debido a que el carbohidrato de la amilasa también podría ser degradado por la  $\alpha$ -glucosidasa, pero se especula que sí tiene cierta actividad inhibitoria de la  $\alpha$ -amilasa ya que ambos extractos siguieron manteniendo alta la reducción del pico postprandial después de la administración del almidón, siendo similar a la acarbosa, que según Kihara, (1997) y

Poovitha, (2016), es un fármaco inhibidor de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa que retarda la digestión de los carbohidratos como los almidones, dextrinas, maltosa y sacarosa que son desdoblados en monosacáridos por estas enzimas y reduce, por lo tanto, los niveles de glucosa postprandial. Por lo que sería interesante comprobar esta hipótesis en experimentos *in vitro* de la inhibición de la  $\alpha$ -amilasa.

Para evaluar la hipoglucemia aguda se realizaron dos experimentos en ratones, el primero está relacionado con medir el efecto hipoglucemiante a corto plazo y el segundo a largo plazo. Para medir el efecto a corto plazo en ratones normoglucémicos se observó que los extractos de *T. cacao*, *C. imbricata*, *O. engelmannii* a 300 mg/kg mostraron tener un efecto hipoglicémico menor al de la glibenclamida (control positivo) y no significativos estadísticamente. Lo cual significa que los extractos pudieran tener un menor efecto secundario de hipoglicemia en el tratamiento de la diabetes. Sin embargo, cuando se probaron los mismos extractos a la misma dosis en los ratones diabéticos inducidos por estreptozotocina, los extractos de *T. cacao* y *O. engelmannii* mostraron ser tan efectivos como la glibenclamida al reducir los niveles de glucosa, mientras que el extracto de *C. imbricata* presentó menor efecto.

Para medir el efecto reductor de la glucosa de los extractos y además observar el efecto protector de la elevación del pico postprandial, eran hipolucemiantes. Se encontró que los extractos metanólicos de *O. engelmannii* y *T. cacao* mostraron tener efecto determinando así que los extractos poseen ambos mecanismos de acción antidiabética.

La diabetes se caracteriza por la hiperglucemia junto con alteraciones bioquímicas del metabolismo de la glucosa y de los lípidos (Karthikeyan *et al.*, 2011), tal elevación podría conducir a un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (Zhang *et al.*, 2013). Por lo que el control glucémico estricto combinado con reducciones dirigidas en la presión arterial y los lípidos del plasma podrían reducir acontecimientos macrovasculares en pacientes con diabetes (Deedwania *et al.*, 2005). En base a estas expectativas, en la presente investigación, se consideró, en el experimento a largo plazo, la evaluación de los niveles de colesterol y triglicéridos con el fin de observar si los extractos estudiados, además de ayudar en el control glicémico, presentan efectos positivos en el control de lípidos y actividad insulínica.

Al analizar los niveles de colesterol, triglicéridos y glucosa en el plasma sanguíneo después de 4 semanas de tratamiento se observó que estos parámetros aumentaron significativamente en los ratones diabéticos inducidos por estreptozocina, a diferencia de los ratones diabéticos tratados con glibenclamida que mostraron reducciones en dichos niveles. Finalmente, los tratamientos de la glibenclamida y los extractos mostraron una reducción significativa del nivel del colesterol, triglicéridos y glucosa en los ratones diabéticos inducidos por la estreptozotocina.

Al determinar los niveles de insulina en el suero, se pudo observar como los ratones diabéticos inducidos por estreptozotocina no tratados presentan una disminución de los niveles de insulina contra los ratones normoglucémicos sin tratamiento. Incluso, los ratones diabéticos inducidos por la estreptozocina que fueron tratados con glibenclamida, mostraron un incremento en sus niveles de insulina, pero no llegaron a igualar a los ratones normoglucémicos. Además, en los ratones diabéticos tratados con los extractos, solo el tratamiento con *T. cacao* presentó resultados significativos, mostrando un incremento de los niveles de insulina similar a la de la glibenclamida. Según Lisson-Abanto *et al.* (1999), uno de los posibles efectos hipoglucemiantes podría ser el incremento en la liberación de insulina en las células beta pancreáticas siguiendo un mecanismo de acción similar a las sulfonilureas como en el caso de la glibenclamida. Por lo contrario, en el caso de los extractos de *O. engelmannii* y *C. imbricata*, mostraron un incremento en los niveles de insulina pero no fueron significativos.

Además, se obtuvo que tanto los ratones normoglucémicos como los diabéticos inducidos por la estreptozocina, tratados con los extractos o la glibenclamida, mostraron una mejoría en la tolerancia a la glucosa a diferencia a los ratones diabéticos inducidos por estreptozocina tratados con el control negativo. Esta mejoría podría estar relacionada con un incremento en el nivel de insulina, que podría ser efecto de un mecanismo de acción de los extractos, debido a que estos pueden incrementar la sensibilidad a la hiperglicemia en células beta que no fueron destruidas por la estreptozocina y estas células sean las responsables de la liberación de insulina, siguiendo un mecanismo de acción similar a la glibenclamida. Por otro lado, también otro de sus posibles mecanismos de acción podría deberse a que los extractos incrementan la sensibilidad de las células musculares, hepáticas y adipocitos en la captación de la insulina, siendo



similar al mecanismo de acción de las tiazolidinedionas, que son fármacos utilizados para tratar la diabetes. Debido a lo anterior, se recomienda realizar futuras investigaciones con extractos bioactivos para determinar su posible mecanismo de acción.

## 9. CONCLUSIONES

A partir de la investigación realizada en los extractos hexánicos, diclorometanólicos, acetato de etilo y metanólicos de la raíz de *I. sonora*, en las pencas y semillas de *O. engelmannii* y *C. imbricata*, así como en la semilla *T. cacao* se concluyó lo siguiente:

- ✓ A partir de los 24 extractos obtenidos de las plantas en estudio se observó una correlación positiva entre los compuestos fitoquímicos, la polaridad del solvente y la actividad biológica, presentando mayor actividad los compuestos obtenidos en solventes polares.
- ✓ Veintitrés de los veinticuatro extractos de las plantas en estudio no presentaron toxicidad en la línea celular B16F10 a concentración de 200 µg/mL, el único extracto tóxico fue el extracto metanólico de raíz *I. sonora*.
- ✓ Los extractos que mostraron actividad antioxidante relevante fueron: acetato de etilo y metanólico de la semilla de *O. engelmannii*, acetato etilo de *C. imbricata* y metanólico de *T. cacao* con una IC<sub>50</sub> similar a la vitamina E.
- ✓ Los extractos que presentaron actividad inhibitoria relevante sobre  $\alpha$ -glucosidasa fueron: Acetato de etilo y metanólico de las semillas de *O. engelmannii*, hexánico del cladodio de *C. Imbricata*, acetato de etilo de semilla de *C. Imbricata*, acetato de etilo y metanólico de *T. Cacao*, siendo este último el de mayor actividad.
- ✓ Los extractos de *T. cacao* y *O. engelmannii* no causaron un efecto hipoglucémico a corto plazo en los ratones normoglucémicos, pero sí en ratones diabéticos aunado a la administración de almidón y sacarosa. Así como a largo plazo con la administración de sacarosa.
- ✓ Los extractos polares de *C. imbricata* y *T. cacao* presentaron un efecto similar a la glibenclamida (control positivo) en la reducción de los niveles de colesterol a largo plazo en ratones diabéticos, por lo que se les consideró que tienen un efecto anticolesterolémico.

- ✓ Los extractos polares de *C. imbricata* y *T. cacao* disminuyeron los niveles de triglicéridos, a niveles menores que la glibenclamida (control positivo). El *T. cacao* fue significativamente más activo por lo que se consideró que tiene un efecto mayor en la reducción de triglicéridos.
- ✓ Los extractos polares de *T. cacao* produjeron aumento en los niveles de insulina, con mayor efecto que la glibenclamida (control positivo), mientras que los extractos de *C. imbricata* y *O. engelmannii* no aumentaron los niveles de insulina en forma significativa.

En resumen, los extractos polares de las semillas de *C. imbricata*, *T. cacao* y *O. engelmannii* presentaron los mejores resultados. Estos no presentaron toxicidad, y además presentaron una acción dual antidiabética al ser agentes antihiperglicemiantes, así como hipoglucemiantes en los ensayos *in vitro* e *in vivo*. Aunado a esto, también, presentaron actividad antioxidante que puede inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas, inhibiendo la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres, relacionadas con el estrés oxidativo de enfermedades crónico degenerativas, como la *diabetes mellitus*. Por lo antes mencionado se recomienda continuar con su estudio como agentes potenciales en los tratamientos o como coadyuvantes en el control de la *diabetes mellitus*.

## 10. PERSPECTIVAS

Se recomienda continuar con el aislamiento e identificación de las moléculas de los extractos activos que presentaron actividad antidiabética, con el fin de poder sintetizarlas químicamente, evaluar su actividad *in vivo* e *in vitro*, determinar los posibles mecanismos de acción para poder establecer nuevos tratamientos farmacológicos para la *diabetes mellitus*.

Por otra parte continuar con investigaciones con efecto antihipercolestirémico de los extractos activos obtenidos en esta investigación, que mostraron reducir los niveles de colesterol y triglicéridos en ratones diabéticos y podrían contribuir a bajar los niveles de grasas en la sangre de los humanos.

## 11.BIBLIOGRAFÍA

- Ablat, A., Halabi, M. F., Mohamad, J., Hasnan, M. H. H., Hazni, H., Teh, S. H. & Awang, K. (2017). Antidiabetic effects of *Brucea javanica* seeds in type 2 diabetic rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 94.
- Aguilar-Santamaría, L., Ramírez, G., Nicasio, P., Alegría-Reyes, C., & Herrera-Arellano, A. (2009). Antidiabetic activities of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth. *Journal of ethnopharmacology*, 124(2), 284-288.
- Alarcon-Aguilar, F. J., Calzada-Bermejo, F., Hernandez-Galicia, E., Ruiz-Angeles, C., & Roman-Ramos, R. (2005). Acute and chronic hypoglycemic effect of *Ibervillea sonorae* root extracts-II. *Journal of ethnopharmacology*, 97(3), 447-452.
- Alfaro, J., Simal, A., & Botella, F. (2000). Tratamiento de la diabetes mellitus. *Inf Ter Sist Nac Salud*, 24(2), 33-43.
- Alonso-Castro, A. J., Miranda-Torres, A. C., González-Chávez, M. M., & Salazar-Olivo, L. A. (2008). *Cecropia obtusifolia* Bertol and its active compound, chlorogenic acid, stimulate 2-NBDglucose uptake in both insulin-sensitive and insulin-resistant 3T3 adipocytes. *Journal of ethnopharmacology*, 120(3), 458-464.
- Anaya-Eugenio, G. D., Rivero-Cruz, I., Rivera-Chávez, J., & Mata, R. (2014). Hypoglycemic properties of some preparations and compounds from *Artemisia ludoviciana* Nutt. *Journal of ethnopharmacology*, 155(1), 416-425.
- Andrade-Cetto, A., Martínez-Zurita, E., Soto-Constantino, A., Revilla-Monsalve, C., & Wiedenfeld, H. (2008). Chronic hypoglycemic effect of *Malmea depressa* root on n5-streptozotocin diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 116(2), 358-362.
- Artiaga, J. F. (2013). Diabetes y trabajo. Análisis de la influencia del control de la enfermedad y de las condiciones de trabajo en el absentismo laboral de las personas diabéticas (Tesis doctoral inédita). Universidad Autónoma de Barcelona.
- Arunachalam, K., Ascêncio, S. D., Soares, I. M., Aguiar, R. W. S., da Silva, L. I., de Oliveira, R. G., ... & de Oliveira Martins, D. T. (2016). *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms: In vitro and in vivo antibacterial activities and mode of action. *Journal of ethnopharmacology*, 184, 128-137.
- Awasthi, H., Nath, R., Usman, K., Mani, D., Khattri, S., Nischal, A., ... & Sawlani, K. K. (2015). Effects of a standardized Ayurvedic formulation on diabetes control in newly diagnosed Type-2 diabetics; a randomized active controlled clinical study. *Complementary therapies in medicine*, 23(4), 555-561.
- Badole, S. L., Shah, S. N., Patel, N. M., Thakurdesai, P. A., & Bodhankar, S. L. (2006). Hypoglycemic activity of aqueous extract of *pleurotus pulmonarius*. in alloxan-induced diabetic mice. *Pharmaceuticalbiology*, 44(6), 421-425.

Barceló, A., C. Aedo, S. Rajpathak. 2003. The cost of diabetes in Latin America and the Caribbean. *Bull World Health Organ*, 81(1): 19-27.

Bayar, N., Kriaa, M., & Kammoun, R. (2016). Extraction and characterization of three polysaccharides extracted from *Opuntia ficus indica* cladodes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 441-450.

Becerra-Jiménez, J., & Andrade-Cetto, A. (2012). Effect of *Opuntia streptacantha* Lem. on alpha-glucosidase activity. *Journal of ethnopharmacology*, 139(2), 493-496.

Bellesia, A., & Tagliazucchi, D. (2014). Cocoa brew inhibits in vitro  $\alpha$ -glucosidase activity: The role of polyphenols and high molecular weight compounds. *Food Research International*, 63, 439-445.

Borah, M., & Das, S. (2017). Antidiabetic, antihyperlipidemic, and antioxidant activities of *Musa balbisiana* Colla. in Type 1 diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 49(1), 71.

Bustos-Brito, C., Andrade-Cetto, A., Giraldo-Aguirre, J. D., Moreno-Vargas, A. D., & Quijano, L. (2016). Acute hypoglycemic effect and phytochemical composition of *Ageratina petiolaris*. *Journal of ethnopharmacology*, 185, 341-346.

Butterweck, V., Semlin, L., Feistel, B., Pischel, I., Bauer, K., & Verspohl, E. J. (2011). Comparative evaluation of two different *Opuntia ficus-indica* extracts for blood sugar lowering effects in rats. *Phytotherapy research*, 25(3), 370-375.

Bwititi, P., Musabayane, C. T., & Nhachi, C. F. B. (2000). Effects of *Opuntia megacantha* on blood glucose and kidney function in streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 69(3), 247-252.

Carai, M. A., Colombo, G., Loi, B., Zaru, A., Riva, A., Cabri, W., & Morazzoni, P. (2015). Hypoglycemic effects of a standardized extract of *Salvia miltiorrhiza* roots in rats. *Pharmacognosy magazine*, 11(Suppl 4), S545.

Chahardoli, A., Karimi, N., Sadeghi, F., & Fattahi, A. (2017). Green approach for synthesis of gold nanoparticles from *Nigella arvensis* leaf extract and evaluation of their antibacterial, antioxidant, cytotoxicity and catalytic activities. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 1-10.

Chipiti, T., Ibrahim, M. A., Singh, M., & Islam, M. S. (2015). In vitro  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effects and cytotoxic activity of *Albizia antunesiana* extracts. *Pharmacognosy magazine*, 11(Suppl 2), S231.

de Oliveira, T. B., Rogero, M. M., & Genovese, M. I. (2015). Polyphenolic-rich extracts from cocoa (*Theobroma cacao* L.) and cupuassu (*Theobroma grandiflorum* Willd. Ex Spreng. K. Shum) liquors: A comparison of metabolic effects in high-fat fed rats. *PharmaNutrition*, 3(2), 20-28.

- de Sales, P. M., de Souza, P. M., Dartora, M., Resck, I. S., Simeoni, L. A., Fonseca-Bazzo, Y. M., ... & Silveira, D. (2017). Pouteria torta epicarp as a useful source of  $\alpha$ -amylase inhibitor in the control of type 2 diabetes. Food and Chemical Toxicology.
- Del Seguro Social, C. C. (2007). Guía para la atención de las personas diabéticas Tipo 2. Costa Rica.
- Deedwania, P. C., & Fonseca, V. A. (2005). Diabetes, prediabetes, and cardiovascular risk: shifting the paradigm. The American journal of medicine, 118(9), 939-947.
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life sciences, 65(4), 337-353.
- Dogan, A., Celik, I., & Kaya, M. S. (2015). Antidiabetic properties of lyophilized extract of acorn (*Quercus brantii* Lindl.) on experimentally STZ-induced diabetic rats. Journal of ethnopharmacology, 176, 243-251.
- Dordevic, M., Mihailović, M., Jovanović, J. A., Grdović, N., Uskoković, A., Tolić, A., ... & Poznanovic, G. (2017). Centaurium erythraea methanol extract protects red blood cells from oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology, 202, 172-183.
- El Abed, H., Chakroun, M., Fendri, I., Makni, M., Bouaziz, M., Drira, N., ... & Khemakhem, B. (2017). Extraction optimization and in vitro and in vivo anti-postprandial hyperglycemia effects of inhibitor from *Phoenix dactylifera* L. parthenocarpic fruit. Biomedicine & Pharmacotherapy, 88, 835-843.
- Ennouri, M., Fetoui, H., Bourret, E., Zeghal, N., Guermazi, F., & Attia, H. (2006). Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica*. 2. Influence of seed supplemented diet on rats. Bioresource technology, 97(16), 2136-2140.
- Eshiet, E. R., Zhu, J., & Smith, E. E. (2014). Lyophilized tea extracts of *Brickellia cavanillesii* (Asteraceae): in vitro characterization of biological activity. Journal of food science, 79(7), T1454-T1461.
- Etuk, E. U. (2010). Animal models for studying diabetes mellitus. AgricBiol JN Am, 1(2), 130-134.
- Etxeberría, U., de la Garza, A. L., Campión, J., Martínez, J. A., & Milagro, F. I. (2012). Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic alpha amylase. Expert opinion on therapeutic targets, 16(3), 269-297.
- Ezzat, S. M., Abdel Motaal, A., & El Awdan, S. A. W. (2017). In vitro and in vivo antidiabetic potential of extracts and a furostanol saponin from *Balanites aegyptiaca*. Pharmaceutical Biology, 55(1), 1931-1936.

- Farid, O., Hebi, M., Ajebli, M., Hidani, A. E., & Eddouks, M. (2017). Antidiabetic effect of *Ruta montana* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 28(3), 275-282.
- Fadipe, V. O., Mongalo, N. I., Opoku, A. R., Dikhoba, P. M., & Makhafola, T. J. (2017). Isolation of anti-mycobacterial compounds from *Curtisia dentata* (Burm. f.) CA Sm (Curtisiaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 306.
- Gabbia, D., Dall'Acqua, S., Di Gangi, I. M., Bogialli, S., Caputi, V., Albertoni, L., ... & De Martin, S. (2017). The Phytocomplex from *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum* Controls postprandial plasma glucose levels: an in vitro and in vivo study in a mouse model of NASH. *Marine drugs*, 15(2), 41.
- Gu, Y., Hurst, W. J., Stuart, D. A., & Lambert, J. D. (2011). Inhibition of key digestive enzymes by cocoa extracts and procyanidins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(10), 5305-5311.
- Gutierrez, R. M. P., & Flores, J. M. M. (2014). Effect Of Chronic Administration Of Hexane Extract Of *Byrsonima Crassifolia* Seed On B-Cell And Pancreatic Oxidative Parameters In Streptozotocin-Induced Diabetic Rat. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(2), 231-236.
- Hatano, T., Miyatake, H., Natsume, M., Osakabe, N., Takizawa, T., Ito, H., & Yoshida, T. (2002). Proanthocyanidin glycosides and related polyphenols from cacao liquor and their antioxidant effects. *Phytochemistry*, 59(7), 749-758.
- He, M. Y., Deng, Y. X., Shi, Q. Z., Zhang, X. J., & Lv, Y. (2014). Comparative pharmacokinetic investigation on baicalin and wogonoside in type 2 diabetic and normal rats after oral administration of traditional Chinese medicine Huanglian Jiedu decoction. *Journal of ethnopharmacology*, 155(1), 334-342.
- Hermosilla Carazo, V. J. (2014). Efecto de la concentración de saponinas en la actividad hemolítica de extractos de ocho plantas de uso medicinal en Guatemala. (Tesis doctoral inédita). Universidad de san Carlos de Guatemala
- Huacuja Gonzáles, E. R. (1995). Contribución al estudio fitoquímico y determinación de la acción antimicrobiana de *Senecio candidissimus*. (Tesis doctoral inédita). Universidad autónoma de Nuevo León.
- Hwang, S. H., Kwon, S. H., Kim, S. B., & Lim, S. S. (2017). Inhibitory Activities of *Stauntonia hexaphylla* Leaf Constituents on Rat Lens Aldose Reductase and Formation of Advanced Glycation End Products and Antioxidant. *BioMed research international*, 2017.



- Jung, M., Park, M., Lee, H. C., Kang, Y. H., Kang, E. S., & Kim, S. K. (2006). Antidiabetic agents from medicinal plants. *Current medicinal chemistry*, 13(10), 1203-1218.
- Kakde, D., Powell, L. G., Bansal, K. K., Howdle, S., Irvine, D., Mantovani, G., ... & Alexander, C. (2016). Synthesis, characterization and evaluation of in vitro toxicity in hepatocytes of linear polyesters with varied aromatic and aliphatic co-monomers. *Journal of Controlled Release*, 244, 214-228.
- Karthikeyan, P., Sridhar, S., & Anuradha, C. V. (2011). Antihyperlipidemic potential of a traditional siddha polyherbal formulation sugnil in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Current Research*, 3(11), 331-335
- Kihara, Y., Ogami, Y., Tabaru, A., Unoki, H., & Otsuki, M. (1997). Safe and effective treatment of diabetes mellitus associated with chronic liver diseases with an alpha-glucosidase inhibitor, acarbose. *Journal of gastroenterology*, 32(6), 777-782.
- Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., Parine, N. R., & Govindan, N. (2015). Evaluation of in-vitro antioxidant and antibacterial properties of *Commelina nudiflora* L. extracts prepared by different polar solvents. *Saudi journal of biological sciences*, 22(3), 293-301.
- Laurenz, J. C., Collier, C. C., & Kuti, J. O. (2003). Hypoglycaemic effect of *Opuntia lindheimeri* Englem. in a diabetic pig model. *Phytotherapy research*, 17(1), 26-29.
- Lee, D., Kim, K. H., Lee, J., Hwang, G. S., Lee, H. L., Hahm, D. H., ... & Kang, K. S. (2017). Protective effect of cirsimaritin against streptozotocin-induced apoptosis in pancreatic beta cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69(7), 875-883.
- Lee, J. C., Kim, H. R., Kim, J., & Jang, Y. S. (2002). Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(22), 6490-6496.
- León Villa, D., & García Ramírez, M. D. J. (2003). Estrategias educativas de la enfermera en el paciente diabético tipo II en el servicio de Medicina preventiva del CEMEV de la ciudad de Xalapa. (Tesis doctoral inédita). Universidad Veracruzana.
- Lisson-Abanto R. 1999. Glibenclamida en diabetes mellitus. *Rev Farmacol Terap*, 6(1-2): 19.
- Liu, B., Kongstad, K. T., Wiese, S., Jäger, A. K., & Staerk, D. (2016). Edible seaweed as future functional food: Identification of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors by combined use of high-resolution  $\alpha$ -glucosidase inhibition profiling and HPLC–HRMS–SPE–NMR. *Food chemistry*, 203, 16-22.

- Liu, S., Ai, Z., Qu, F., Chen, Y., & Ni, D. (2017). Effect of steeping temperature on antioxidant and inhibitory activities of green tea extracts against  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and intestinal glucose uptake. *Food Chemistry*, 234, 168-173.
- Liu, Z., Zhai, J., Han, N., & Yin, J. (2016). Assessment of anti-diabetic activity of the aqueous extract of leaves of *Astilboide stabularis*. *Journal of ethnopharmacology*, 194, 635-641.
- Malunga, L. N., & Izydorczyk, M. (2017). Antiglycemic effect of water extractable arabinoxylan from wheat aleurone and bran. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2017.
- Mayo, Dana W., Pike, R. M. & Trumper Peter K., *Microscale Organic Laboratory with Multistep and Multiscale Syntheses*. USA, 3rd. Ed., John Wiley
- Meneses Ramírez, C. (2014). Conocimientos que tienen los pacientes diabéticos sobre diabetes mellitus tipo 2 en una unidad de medicina familiar. (Tesis doctoral inédita). Universidad Veracruzana.
- Mokrani, A., & Madani, K. (2016). Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, 162, 68-76.
- Montilla, P., Barcos, M., Muñoz, M. C., Muñoz-Castañeda, J. R., Bujalance, I., & Túnez, I. (2004). Protective effect of Montilla-Moriles appellation red wine on oxidative stress induced by streptozotocin in the rat. *The Journal of nutritional biochemistry*, 15(11), 688-693.
- Mudi, S. R., Akhter, M., Biswas, S. K., Muttalib, M. A., Choudhury, S., Rokeya, B., & Ali, L. (2017). Effect of aqueous extract of *Aegle marmelos* fruit and leaf on glycemic, insulinemic and lipidemic status of type 2 diabetic model rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 14(2).
- Murillo, M. D., Fernández-Llimós, F., & Tuneu Valls, L. (2004). Guía de seguimiento farmacoterapéutico sobre diabetes. España, Espai Gràfic Anagrafic, S.L
- Ncube, B., J. F. Finnie, and J. Van Staden. "In vitro antimicrobial synergism within plant extract combinations from three South African medicinal bulbs." *Journal of Ethnopharmacology* 139.1 (2012): 81-89.
- Nian, S. H., Li, H. J., Liu, E. H., & Li, P. (2017). Comparison of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effect and bioactive constituents of *Anemarrhenae Rhizoma* and Fibrous Roots. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.
- Ortiz-Andrade, R. R., Garcia-Jimenez, S., Castillo-Espana, P., Ramirez-Avila, G., Villalobos-Molina, R., & Estrada-Soto, S. (2007).  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of

the methanolic extract from *Tournefortia hartwegiana*: an anti-hyperglycemic agent. *Journal of ethnopharmacology*, 109(1), 48-53.

Ovalle-Magallanes, B., Medina-Campos, O. N., Pedraza-Chaverri, J., & Mata, R. (2015). Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of phytopreparations and limonoids from *Swietenia humilis*. *Phytochemistry*, 110, 111-119.

Patel, P., Harde, P., Pillai, J., Darji, N., & Patel, B. (2012). Antidiabetic herbal drugs a review. *Pharmacophore*, 3(1), 18-29.

Pereira, j. r., Queiroz, r. f., Siqueira, e. a., Brasileiro-vidal, a. c., Santana, a. e., Silva, d. m., & Affonso, p. r. d. m. (2017). Evaluation of cytogenotoxicity, antioxidant and hypoglycemic activities of isolate compounds from *Mansoa hirsuta* DC (Bignoniaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(1), 317-331.

Poovitha, S., & Parani, M. (2016). In vitro and in vivo  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibiting activities of the protein extracts from two varieties of bitter melon (*Momordica charantia* L.). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 185.

Priya, C. L., & Rao, K. B. (2016). Postprandial antihyperglycemic and antioxidant activities of *Acalypha indica* Linn stem extract: An in-vivo study. *Pharmacognosy Magazine*, 12(Suppl 4), S475.

Qiu, Y., Chen, Y., Pei, Y., Matsuda, H., & Yoshikawa, M. (2002). Constituents with Radical Scavenging Effect from *Opuntia dillenii*: Structures of New. ALPHA.-Pyrones and Flavonol Glycoside. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 50(11), 1507-1510.

Ramadan, B. K., Schaalan, M. F., & Tolba, A. M. (2017). Hypoglycemic and pancreatic protective effects of *Portulaca oleracea* extract in alloxan induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 37.

Ramos, E., Castañeda, B., & Ibáñez, L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Rev Acad Peru Salud*, 15(1), 42-46.

Rangika, B. S., Dayananda, P. D., & Peiris, D. C. (2015). Hypoglycemic and hypolipidemic activities of aqueous extract of flowers from *Nycantus arbor-tristis* L. in male mice. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 289.

Rivera-Ramírez, F., Escalona-Cardoso, G. N., Garduno-Siciliano, L., Galaviz-Hernández, C., & Paniagua-Castro, N. (2011). Antiobesity and hypoglycaemic effects of aqueous extract of *Ibervillea sonora* in mice fed a high-fat diet with fructose. *BioMed Research International*, 2011.

Rodrigues, M. J., Custódio, L., Lopes, A., Oliveira, M., Neng, N. R., Nogueira, J. M., ... & Barreira, L. (2017). Unlocking the in vitro anti-inflammatory and antidiabetic potential of *Polygonum maritimum*. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1348-1357.

- Russo, D., Valentão, P., Andrade, P. B., Fernandez, E. C., & Milella, L. (2015). Evaluation of antioxidant, antidiabetic and anticholinesterase activities of *Smallanthus sonchifolius* landraces and correlation with their phytochemical profiles. *International journal of molecular sciences*, 16(8), 17696-17718.
- Ruzaidi, A., Amin, I., Nawalyah, A. G., Hamid, M., & Faizul, H. A. (2005). The effect of Malaysian cocoa extract on glucose levels and lipid profiles in diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 98(1), 55-60.
- Salvador, Â. C., Król, E., Lemos, V. C., Santos, S. A., Bento, F. P., Costa, C. P., ... & Silvestre, A. J. (2016). Effect of Elderberry (*Sambucus nigra* L.) extract supplementation in STZ-induced diabetic rats fed with a high-fat diet. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 13.
- Sánchez Álvarez, V. A. (2015). Obtención de un extracto acuoso con propiedad hipoglucemiante a partir de las semillas del Achiote (*bixa orellana* linn) para el tratamiento de la Diabetes. (Tesis doctoral inédita). Universidad Técnica de Machala
- Sanchez Rivero, G. (2007). Historia de la diabetes. *Gaceta Médica Boliviana*, 30(2), 74-78.
- Sánchez-Salgado, J. C., Ortiz-Andrade, R. R., Aguirre-Crespo, F., Vergara-Galicia, J., León-Rivera, I., Montes, S., ... & Estrada-Soto, S. (2007). Hypoglycemic, vasorelaxant and hepatoprotective effects of *Cochlospermum vitifolium* (Willd.) Sprengel: A potential agent for the treatment of metabolic syndrome. *Journal of ethnopharmacology*, 109(3), 400-405.
- Shang, N., Saleem, A., Musallam, L., Walshe-Roussel, B., Badawi, A., Cuerrier, A., ... & Haddad, P. S. (2015). Novel approach to identify potential bioactive plant metabolites: pharmacological and metabolomics analyses of ethanol and hot water extracts of several Canadian medicinal plants of the Cree of Eeyou Istchee. *PloS one*, 10(8), e0135721.
- Su, Bu-Li, et al. "Antioxidant and antimicrobial properties of various solvent extracts from *Impatiens balsamina* L. stems." *Journal of food science* 77.6 (2012): C614-C619.
- Subramanian, R., Asmawi, M. Z., & Sadikun, A. (2008). In vitro alpha-glucosidase and alpha-amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Acta Biochim Pol*, 55(2), 391-398.
- Sulyman, A. O., Akolade, J. O., Sabiu, S. A., Aladodo, R. A., & Muritala, H. F. (2016). Antidiabetic potentials of ethanolic extract of *Aristolochia ringens* (Vahl.) roots. *Journal of ethnopharmacology*, 182, 122-128.

Swanston-Flatt, S. K., Day, C., Bailey, C. J., & Flatt, P. R. (1990). Traditional plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice *Diabetologia*, 33(8), 462-464.

Thenmozhi, P., Guru, S. P. S., Kannan, M., & Sathiyarajeswaran, P. (2016). Overview on selected medicinal plants used in the management of diabetes mellitus. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 5(10) 391-400

Wan, L. S., Chen, C. P., Xiao, Z. Q., Wang, Y. L., Min, Q. X., Yue, Y., & Chen, J. (2013). In vitro and in vivo anti-diabetic activity of *Swertia kouitchensis* extract. *Journal of ethnopharmacology*, 147(3), 622-630.

Yamashita, Y., Okabe, M., Natsume, M., & Ashida, H. (2012). Comparison of anti-hyperglycemic activities between low- and high-degree of polymerization procyanidin fractions from cacao liquor extract. *Journal of Food and Drug Analysis*, 20(1), 284.

Zapata-Bustos, R., Alonso-Castro, Á. J., Gómez-Sánchez, M., & Salazar-Olivo, L. A. (2014). *Ibervillea sonorae* (Cucurbitaceae) induces the glucose uptake in human adipocytes by activating a PI3K-independent pathway. *Journal of ethnopharmacology*, 152(3), 546-552.

Zhang, Y., Chen, P., Zhang, Y., Jin, H., Zhu, L., Li, J., & Yao, H. (2013). Effects of polysaccharide from pumpkin on biochemical indicator and pancreatic tissue of the diabetic rabbits. *International journal of biological macromolecules*, 62, 574-581.

Zhao, L. Y., Lan, Q. J., Huang, Z. C., Ouyang, L. J., & Zeng, F. H. (2011). Antidiabetic effect of a newly identified component of *Opuntia dillenii* polysaccharides. *Phytomedicine*, 18(8), 661-668.

### **Fuentes electrónicas:**

Álvarez, D., & Rodríguez, Y. (2009). Historia de la diabetes mellitus (cronología). Disponible en:  
[http://articulos.sld.cu/diabetes/files/2009/07/cronologia\\_de\\_la\\_diabetes\\_mellitus.pdf](http://articulos.sld.cu/diabetes/files/2009/07/cronologia_de_la_diabetes_mellitus.pdf)

Fundación para la diabetes. 2016. Disponible en:  
<http://www.fundaciondiabetes.org/infantil/178/criterios-de-diagnostico-ninos>. 2016

Internacional Diabetes Federation. 2013. Disponible en: <https://www.idf.org/>

Organización Mundial de la Salud. 2014. Disponible en:  
[http://www.who.int/topics/diabetes\\_mellitus/es/](http://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/es/)

Secretaría de salud. 2007. Disponible en:  
<http://www.salud.gob.mx/unidades/dgapbp/primersemestre.htm>

## **RESUMEN BIOGRÁFICO**

**Gastaldo Emanuel De la sota Esparza**

Candidato para el grado de

**Doctorado en Ciencias con Acentuación en Química de Productos Naturales**

Tesis: Evaluación del efecto antidiabético *in vitro* e *in vivo* de los extractos de las semillas y penca de *Opuntia engelmannii* y *Cylindropuntia imbricata*, semillas de *Theobroma cacao* y la raíz de *Ibervillea sonora*.

Campo de Estudio: Química de productos naturales, enfocado con el bienestar de la salud.

Datos personales: Nacido en Monterrey Nuevo León el 13 de Julio de 1985, hijo de María Laura Esparza Alanís.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Químico Farmacéutico Biólogo en junio de 2011.